Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. A. Hirsch

Untersuchungen über die Wirkung von LHRH 10–6309 auf die Freisetzung von FSH an Rattenhypophysenkulturen und Beeinflussung durch Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$.

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
Tübingen

vorgelegt von
Elisabeth Doris Seyerle
aus Reichenbach

1979

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. A. Hirsch

Untersuchungen über die Wirkung von LHRH 10–6309 auf die Freisetzung von FSH an Rattenhypophysenkulturen und Beeinflussung durch Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$.

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
Tübingen

vorgelegt von
Elisabeth Doris Seyerle
aus Reichenbach

1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H. Heimann
Berichterstatter: Professor Dr. S. Heller
(Professor Dr. H. A. Hirsch)

Gedruckt bei Fa. H.-J. Köhler, Reprografischer Betrieb, Vor dem Kreuzberg 25, 7400 Tübingen

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
1. EINLEITUNG	1
1.1. Zusammenwirken von Hypothalamus-Hypophyse-Gonaden	1
1.2. Geschichtlicher Überblick über die Entwicklung der Regelsysteme	3
1.3. Isolierung, Reinigung und Synthese der Gonadotropin-Releasinghormone	4
1.4. Wesentliche Versuche mit Rattenhypophysenkulturen	6
2. FRAGESTELLUNG DER ARBEIT	12
3. MATERIAL UND METHODIK	13
3.1. Hypophysenkulturen	13
3.2. FSH-Nachweis	16
3.3 Statistische Auswertung der Ergebnisse	17
4. ERGEBNISSE	18
5. DISKUSSION	68
6. ZUSAMMENFASSUNG	75
7. LITERATURVERZEICHNIS	77

Erläuterung der in der Arbeit verwandten Abkürzungen:

ACS	=	Acetylsalicylsäure
ACTH	=	Adenocorticotropes Hormon
CRH	=	Corticotropes Releasinghormon
FSH	=	Follikelstimulierendes Hormon
FSHRH	=	FSH-Releasinghormon
HVL	=	Hypophysenvorderlappen
LH	=	Luteinisierendes Hormon
LHRH	=	LH-Releasinghormon
$PGF_{2\alpha}$	=	Prostaglandin $F_{2\alpha}$
RH	=	Releasinghormon
TRH	=	Thyreotropes Releasinghormon
TSH	=	Schilddrüsenstimulierendes Hormon

1. EINLEITUNG

Bereits vor einigen Jahren wurde in zahlreichen Experimenten mit verschiedenen Tierarten nachgewiesen, daß das Hypophysen-Gonaden-System durch ein übergeordnetes Zentrum, dem Hypothalamus, gesteuert wird. Weitere Untersuchungen ergaben, daß diese Steuerung durch sogenannte Releasinghormone erfolgt. Diese konnten isoliert und synthetisch hergestellt werden.
In der vorliegenden Arbeit wird die Ausschüttung von FSH an Rattenhypophysenkulturen untersucht nach Zusatz verschiedener Dosen eines synthetischen Releasinghormons. Außerdem wird geprüft, ob Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$ diese Ausschüttung beeinflussen.

1.1. Zusammenwirken von Hypothalamus-Hypophyse-Gonaden

Nach neuesten Erkenntnissen gilt als gesichert (58b, 2), daß sich die Steuerung der Gonadenfunktion vereinfacht auf drei Regelkreisen aufbaut:

a) Ovar $\xrightarrow{\text{Steroid}}$ Hypothalamus $\xrightarrow{\text{RH}}$ HVL $\xrightarrow{\text{Gonadotropine}}$ Ovar

Der Hypothalamus stimuliert durch die Abgabe von Releasinghormonen die Ausschüttung von FSH und LH.

FSHRH und LHRH (58d) werden über die Pfortaderblutgefäße von der Eminentia mediana, dem Hauptteil des Hypophysenvorderlappens, der Pars distalis zugeführt.
Diese Ansicht vertrat bereits HARRIS im Jahre 1955 (27). FSH und LH regen die Ovarien zur Bildung von Östrogen, bzw. Progesteron an. Diese vermögen rückwirkend die Inkretion von FSH/LHRH zu hemmen und daher die Ausschüttung von FSH und LH zu blockieren.

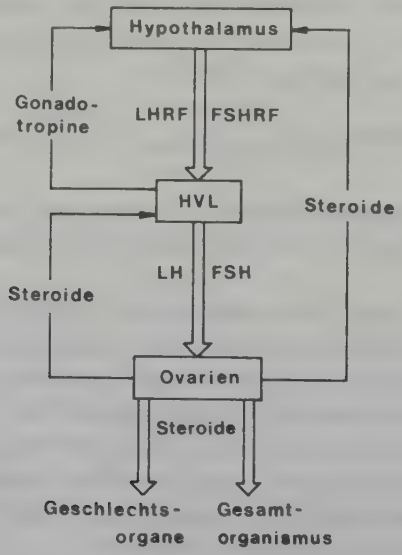
b) Ovar $\xrightarrow{\text{Steroid}}$ HVL $\xrightarrow{\text{Gonadotropine}}$ Ovar

Studien mit H^3-markierten Steroiden zeigten, daß Östrogene und Progesteron auch direkten Einfluß auf den Hypophysenvorderlappen haben (57).
Unter bestimmten Voraussetzungen, zum Beispiel bei niederen Östrogendosen, können Östrogene eine LH-Ausschüttung im Sinne eines sogenannten positiven Rückkopplungsmechanismus auslösen (57, 15, 45).

c) HVL $\xrightarrow{\text{Gonadotropine}}$ Hypothalamus $\xrightarrow{\text{RH}}$ HVL

Dieser Regelkreis wird als innerer, bzw. Selbstrückkopplungsmechanismus bezeichnet, hierbei geht die hemmende Wirkung vom FSH und LH aus.

Abb.1: Übersichtsschema der Regelkreise (vereinfachtes Schema nach HELLER 1972)



1.2. Geschichtlicher Überblick über die Entwicklung der Regelsysteme

1932 stellten sich HOHLWEG und JUNKMANN auf Grund einiger Untersuchungen als erste die Frage, ob die negative Rückkopplung zwischen dem Hypophysenvorderlappen und den Ovarien über ein "nervöses System" geht. Diese konnte erst am Anfang der "fünfziger Jahre" von GREER (1951), BOGDANOVE und HALMI (1953) in Bezug auf TSH und von FLÊRKO (1954) in Bezug auf die Gonadotropine beantwortet werden. Es wurde festgestellt, daß die Östrogene direkt auf den Hypothalamus einwirken (3, 17, 14).
1938 bewiesen WESTMANN und JAKOBSEN die steuernde Funktion des Hypothalamus. In ihren Versuchen durchtrennten sie den Hypophysenstiel und beließen die Hypophyse in situ. Das Ergebnis war eine Atrophie der Ovarien (66).
Mit Hilfe von Hypophysentransplantaten und elektrischer Reizung verschiedener Hypothalamusregionen wurden weitere Versuche, insbesondere von G.W. HARRIS, in dieser Richtung durchgeführt (27, 24, 25, 26).
Er stellte fest, daß das Blut in den Portalgefäßen von der Eminentia mediana zum Hypophysenvorderlappen fließt (27).
1954 erbrachte TÖRÖK wervolle Erkenntnisse über den Hypophysenkreislauf durch seine Versuche mit Farbinjektionen an anästhesierten Tieren (61).

1962 verpflanzte HALÂSZ et al. Hypophysengewebe in verschiedene Gebiete des Hypothalamus. Dabei konnte festgestellt werden, daß nur in einer bestimmten Region, nämlich dem mittleren basalen Bereich, eine Sekretion erfolgte (20).

Umgekehrt bewirkten Hypothalamusextrakte einen direkten Einfluß auf die Ausschüttung der Hypophyse.
Dieses konnte zunächst an der ACTH-Sekretion bei in vitro

und in vivo Versuchen (SCHALLY, SAFFRAN et al.) gezeigt werden. Die dafür verantwortliche Substanz wurde als corticotropes Releasinghormon (CRH) bezeichnet (48, 18).
1962 entdeckte GUILLEMIN ein thyreotropes Releasinghormon (TRH) (19) und McCANN (38) ein Releasinghormon für das luteinisierende Hormon (LH).
1961 und 1964 zeigten CAMPBELL et al. (5, 6) und 1962 NIKITOWITCH-WINER (40), daß Infusionen von Eminentia mediana Extrakten in den Hypophysenvorderlappen bei Ratten und Hasen eine Ovulation hervorrufen. Damit war der Nachweis für einen LH-Release erbracht.
1964 gaben IGARASHI und McCANN (29) erstmals die Existenz eines FSH-Releasinghormons an.

1.3. Isolierung, Reinigung und Synthese der Gonadotropin-Releasinghormone

Bisher hatte man Releasing-Aktivität in Hypothalamusextrakten von Ratten (37, 42), Schafen (30, 52), Rind (52, 53), Kaninchen, Hund (12), Affe (6), Schwein (53a) und Mensch (55a) nachgewiesen. Der nächste Schritt war, dieses Releasinghormon zu isolieren (37, 42).
Die Aufbereitung des LH-Releasinghormons (55, 54, 44, 13) erfolgte durch Gel-Filtration (Sephadex-G 25), Phenolextraktion, Chromatographie und Rechromatographie auf Carboximethyl-Cellulose und Säulenelektrophorese. Durch die Phenolextraktion wurden Salze und andere Materialien entfernt. Der Vasopressinanteil wurde durch Chromatographie fast vollständig eliminiert.
Die Molekulargewichte von FSHRH/LHRH wurden auf 1000 bis 2000 geschätzt, etwas höher als die von Vasopressin und Oxytocin (9,58c). Neuere Ergebnisse brachten jedoch auch Vermutungen über ein Molekulargewicht unter 600 (67).
Der Arbeitsgruppe von SCHALLY gelang es durch Hydrolyse und enzymatische Aufarbeitung die Aminosäuresequenz des Releasinghormons aufzuklären. Es handelt sich um folgendes

Dekapeptid:
PYROGLU-HIS-TRY-SER-TYR-GLY-LEU-ARG-PRO-GLY-NH_2

Durch zahlreiche Versuche mit verschiedenen Enzymen konnte der Peptidcharakter des Releasinghormons gesichert werden (58c). Die Aktivität von LHRH und FSHRH konnte durch Inkubation mit Endopeptidasen (Chymotrypsin, Papain, Thermolysin) aufgehoben werden, jedoch nicht durch Exopeptidasen (Leucin-Aminopeptidase, Aminopeptidase M, Carboxipeptidase A und B) (58d).
Um die herausgefundene Aminosäurensequenz zu bestätigen, versuchte SCHALLY eine synthetische Herstellung des RH (1). Die genaue Synthese gelang der Gruppe unter GEIGER von den Farbwerken HOECHST (16).
Dieser synthetische Faktor entspricht dem von SCHALLY et al. aus Schweinehypothalami isolierten natürlichen Releasinghormon. In verschiedenen Testen wurden das natürliche und das synthetische Releasinghormon auf ihre biologische Wirksamkeit geprüft und gleiche Ergebnisse erzielt (50, 47).

Weitere Versuche mit dem isolierten Dekapeptid zeigten, daß dieses nicht nur die Ausschüttung von LH, sondern auch von FSH bewirkte. Man fragte sich nun, handelt es sich hier um eine Verunreinigung des LHRH mit FSHRH, oder aber ist nur ein einziges Releasinghormon für die Ausschüttung beider Hormone verantwortlich (58c, 58d).
SCHALLY versuchte zunächst durch Elektrophorese (9), später durch zahlreiche Reinigungsschritte den FSHRH vom LHRH abzutrennen (36). Er folgerte, daß nur ein einziges Releasinghormon für die physiologische Regulation von FSH und LH verantwortlich ist (58).

1.4. Wesentliche Versuche mit Rattenhypophysenkulturen

a) RH: Synthese und Release?

Von einigen Autoren wird diskutiert, ob das Releasinghormon nicht nur eine Freisetzung, sondern auch eine Synthese von FSH und LH bewirkt.
SCHALLY konnte eine Neusynthese nachweisen, indem er mit Tritium markiertes Glucosamin zusetzte und dieses im LH nachweisen konnte (47).
MITTLER konnte ebenfalls eine Synthese nachweisen. Er kultivierte drei Tage lang Rattenhypophysen und setzte zwei mal täglich Releasinghormon zu. Im Vergleich zu den Kontrollen erfolgte eine quantitativ größere Ausschüttung (39). Andere Versuche konnten dies bestätigen (49).

Durch Versuche mit Puromycin und Actinomycin, als Hemmer der Proteinsynthese, konnte die Wirkung des Releasinghormons vermindert werden (65, 32, 31). Es wurde diskutiert, ob es sich um eine Blockierung der Neusynthese von FSH handelt, oder ob ein Eingriff in ein Enzymsystem vorliegt, das für den FSH-Release verantwortlich ist (31).

b) Beeinflussung der RH-Aktivität durch verschiedene Substanzen

Neben einer Hemmung, bzw. Förderung des Release wurden Substanzen entdeckt, die selbst einen unspezifischen Release auslösen.

Einen Kurzen Überblick zeigt die folgende Tabelle (entnommen aus HELLER, 1972):

Tabelle 1 Substanzen, die einen Gonadotropin-Release aus der Hypophyse bewirken:

Substanz	Dosis in µg	Versuchstier	Applikationsart	Wirkung	Autoren
Adrenalin	1/100	Kaninchen	intrahypophyseal	4 von 17 Ovulation	MARKEE et al. 1948
	1/1000	Kaninchen	intrahypophyseal	5 von 10 Ovulation	MARKEE et al. 1948
	50	Kaninchen	intraventrikulär	4 von 10 Ovulation	SAWYER 1952
	5	Ratten	i.v.	LH-Release	RAMIREZ et al. 1963
	120	Kaninchen	intrahypophyseal	2 von 11 Ovulation	CAMPBELL et al. 1964
	40	Ratten	i.v.	LH-Release	MARTINI et al. 1961
Noradrenalin	50	Kaninchen	intraventrikulär	4 von 10 Ovulation	SAWYER 1952
Acetylcholin + Prostigmin	10 + 5	Ratten	intrahypophyseal	LH-Release	TAUBENHAUS et al. 1941
	50 + 40	Ratten	s.c.	2 von 10 Pseudopregnancy	TAUBENHAUS et al. 1941
Acetylcholin	5	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	ENDRÖCZI et al. 1965
	10	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	ENDRÖCZI et al. 1965
Carbamylcholin	5	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	ENDRÖCZI et al. 1965
Histamin	250 -500	Kaninchen	intraventrikulär	LH-Release	SAWYER 1955
	120	Kaninchen	intrahypophyseal	LH-Release	CAMPBELL et al. 1964
	3000	Ratten	i.v.	LH-Release	McCANN et al. 1960
	15	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	ENDRÖCZI et al. 1965
Serotonin	35	Ratten	i.v.	LH-Release	McCANN et al. 1960
	50	Ratten	i.v.	LH-Release	GUILIANI et al. 1961

Fortsetzung Tabelle 1:

Substanz	Dosis in µg	Versuchstier	Applikationsart	Wirkung	Autoren
Lysin-Vasopressin	16IU	Kaninchen	i.v.	Erhöhung der Gonadotropinausscheidung im Urin	MARTINI et al. 1959
Pitressin	16IU	Kaninchen	i.v.		
	70mU	Ratten	i.v.	LH-Release	McCANN et al. 1960
	300	Ratten	i.v.	LH-Release	GUILIANI et al. 1961
	200mU	Ratten	i.v.	LH-Release	RAMIREZ et al. 1963
	1000mU	Ratten	i.v.	LH-Release	RAMIREZ et al. 1963
Lysin-Vasopressin	5mU	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	ENDRÖCZI et al. 1965
Pitocin	16mU	Kaninchen	i.v.	Erhöhung der Gonadotropinausscheidung im Urin	MARTINI et al. 1959
Syntocinon	16mU	Kaninchen	i.v.		
Oxytocin	20mU	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	ENDRÖCZI et al. 1965
			FSH - Release		
Histamin	20	Ratten	i.c.	FSH-Release	SAITO et al. 1967
Vasopressin	500mU	Ratten	i.c.	FSH-Release	
Spermidine	10	Ratten	i.c.	FSH-Release	
			Andere Substanzen		
Picrotoxin	1500	Kaninchen	i.v.	2 von 14 Ovulation	KASDON 1949
	1500-2000	Kaninchen	i.v.	50% Ovulation	SAWYER et al. 1950
Kupferacetat	10000	Kaninchen	i.v.	Ovulation	SAWYER et al. 1950
	150	Kaninchen	intrahypophyseal	Ovulation	SAWYER et al. 1950

Fortsetzung Tabelle 1:

Substanz	Dosis in µg	Versuchstier	Applikationsart	Wirkung	Autoren
Kupfergluconat	4mg/kg	Kaninchen	i.v.	Ovulation	SUZUKI et al. 1964 a
Kupfersulfat	4mg/kg	Kaninchen	i.v.	Ovulation	SUZUKI et al. 1964 b
	5Omg	Kaninchen	Implantation in Eminentia mediana	Ovulation	HIROI et al. 1965
	1Omg	Kaninchen	i.v.	Ovulation	KOBAYASHI et al. 1965
	1/66O der i.v. Dosis	Kaninchen	intraventrikulär	Ovulation	KOBAYASHI et al. 1965
	1/3O-1/6O der i.v. Dosis	Kaninchen	intravertebral	Ovulation	KOBAYASHI et al. 1965
	3mg/kg	Kaninchen	i.v.	Ovulation	SUZUKI et al. 1965

Im folgenden wird nur auf Versuche eingegangen, die in vitro durchgeführt wurden.

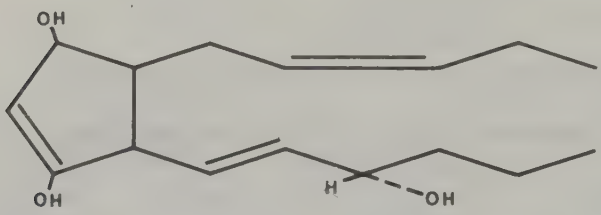
Zunächst wurde ein Einfluß des Releasinghormons auf die Zellmembran der Hypophysenzellen angenommen. SAMLI und GESCHWIND (49a) beschrieben eine erhöhte Ausschüttung von LH auf Grund einer vermehrten Anreicherung von K^+ im Medium. DOUGLAS und POISNER hatten dies bereits für den Hypophysenhinterlappen gezeigt (10). Weitere Versuche bestätigten den additiven Effekt einer hohen K^+-Konzentration und der Releasinghormone (63).

WACABAYASHI und McCANN konnten durch radioaktive Markierung eine Erhöhung der Glucoseoxidation nachweisen, nachdem sie den Kulturen Hypothalamusextrakt zugegeben hatten (64). Daraus schlossen sie eine Beteiligung der Releasinghormone am Kohlehydratstoffwechsel der Hypophysenzelle, wahrscheinlich

in Zusammenhang mit dem zyklischen AMP.

In den folgenden Untersuchungen soll u.a. geprüft werden, ob Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$ die Gonadotropinsekretion beeinflussen.

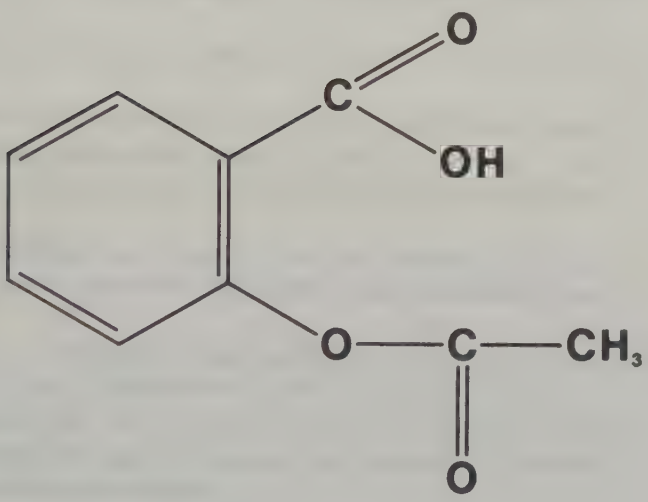
Abb.2: Strukturformel von Prostaglandin $F_{2\alpha}$:



Die Prostaglandine üben auf die Gonaden einen luteolytischen Effekt aus (42), den man sich zunächst als lokalen Effekt vorstellte. Spätere Versuche bewiesen auch eine zentrale Wirkung auf die Hypophyse, entweder direkt oder indirekt über den Hypothalamus. Der LH-Gehalt der mit Prostaglandin $F_{2\alpha}$ behandelten Ratten lag weit über dem der Kontrollen (35). McCANN injizierte Prostaglandine in den dritten Ventrikel von ovarektomierten Ratten und erhielt damit einen signifikanten Anstieg des Plasma-LH-Spiegels (22).
In weiteren Versuchen vertrat er die Auffassung, daß die Wirkung der Prostaglandine auf den Release mit dem zyklischen AMP zusammenhängt. Sie erhöhen die Adenyl-Zyklase-Aktivität (1). 1970 berichtete RATNER über eine LH-Ausschüttung durch zyklisches AMP und Theophyllin (46).

Als Antagonisten der Prostaglandine stellten sich Polyphloretin-Phosphat, Indomethazin und vor allem die in dieser Arbeit verwandte Acetylsalicylsäure heraus (11, 62).

Abb.3: Strukturformel der Acetylsalicylsäure
= 2-Acetoxy-benzoesäure



2. FRAGESTELLUNG DER ARBEIT

In der vorliegenden Arbeit wurden Versuche mit kultivierten Rattenhypophysen, unter Zugabe des synthetischen LHRH 10-6309 (Fa. LA ROCHE, Basel) und von Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$, durchgeführt.

Es stellten sich folgende Fragen:

1. Findet sich nach Zugabe von LHRH unter den jeweiligen Versuchsbedingungen eine konzentrationsabhängige Förderung oder Hemmung der FSH-Ausschüttung?

2. Gibt es Hinweise auf eine Neusynthese von FSH unter der Zugabe von LHRH 10-6309?

3. Kinetische Studie der FSH-Ausschüttung.

4. Hat Acetylsalicylsäure + LHRH 10-6309 und Prostaglandin $F_{2\alpha}$ allein und in Kombination mit LHRH 10-6309 einen Einfluß auf die FSH-Ausschüttung?

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. Hypophysenkulturen

Der Ansatz der Hypophysenkulturen erfolgte nach einer Modifikation der Methode von A.V. SCHALLY (47).

Verwandte Materialien

1. Hypophysen von weiblichen Wistar-Ratten;
   Gewicht: 150-170 g.
   (Versuchsanstalt IVANOVAS, Kissleg/Allgäu)

2. TCM 199
   (DIFKO LABORATORIES DETROIT, Michigan USA)

3. TC Bicarbonate Solution 10%
   (DIFKO LABORATORIES DETROIT, Michigan USA)

4. Binotal
   (BAYER LEVERKUSEN)

5. Acetylsalicylsäure g 4600 E
   (BAYER LEVERKUSEN)

6. LHRH 10-6309
   (HOFFMANN-LA ROCHE, Basel)

7. Prostaglandin $F_{2\alpha}$
   (THE UPJOHN COMPANY OF CANADA MICHIGAN ONTARIO)

8. Sterile physiologische NaCl 0,9%

Herstellung der Arbeitslösungen

1. TCM-Herstellung
   Die Zubereitung erfolgte nach Gebrauchsanweisung

2. Herstellung der Binotal-Lösung
   Als Lösungsmittel verwandte man TCM 199. Es wurden pro 1 ml Medium 0,0001 g Binotal zugesetzt.

3. LHRH 1o-6309
   Die Lösung der Substanz erfolgte in TCM 199. Es wurden folgende Konzentrationen hergestellt:
   0,5µg/ml, 1,5µg/ml, 2,5µg/ml

4. Acetylsalicylsäure
   Die Lösung erfolgte ebenfalls in TCM 199, und zwar in folgenden Dosierungen:
   1mg/ml, 0,5mg/ml, 0,1mg/ml

5. Prostaglandin $F_{2\alpha}$
   Die Verdünnung der Ausgangslösung (1ml ≙ 5mg) erfolgte mit TCM 199: 0,5mg, 0,1mg und 0,01mg Prostaglandinkonzentrationen wurden hergestellt.

Methodik

Die Züchtung der Hypophysen erfolgte modifiziert nach REDDING, SCHALLY et al. (47).
Im Gegensatz zu REDDING, SCHALLY et al. wurden TCM 199 ohne Kälberserum verwandt, da die Zellen nicht wegen des Wachstums, sondern um kontrollierbare Hormonmengen zu erhalten, kultiviert wurden. Als Antibiotikum verwandte man Binotal anstelle von Streptomycin und Penicillin.
Mit Ausnahme von Versuch 1, setzte man wie bei TIXIER-VIDAL et al. (60) täglich neues Medium zu.
Um eine größere Sterilität zu gewährleisten, wurde im Gegensatz zu REDDING, SCHALLY et al. (47) jeweils nur eine

Hypophyse in einem Erlenmeyerkolben kultiviert.

Kulturansatz

Nach sterilem Herauspräparieren der Rattenhypophysen, bewahrte man sie in kleinen Glaskölbchen mit jeweils 2 ml TCM 199 (mit Binotal) bis zur Weiterverarbeitung auf. Danach wurde jede Hypophyse auf einem kleinen Uhrglas in TCM 199 unter sterilen Bedingungen in möglichst kleine Teile zerschnitten, um eine große Oberfläche zu erhalten. Mit einer sterilen Nasenpipette brachte man dann die einzelnen Hypophysenteilchen in einen 50 ml Erlenmeyerkolben mit jeweils 5 ml sterilem Medium.
Je nach Versuch wurden den einzelnen Kulturen verschiedene Dosen des LHRH, der Acetylsalicylsäure oder des Prostaglandins zugesetzt. Den Kontrollgruppen setzte man keine weitere Substanz zu.
Anschließend erfolgte Begasung der einzelnen Kulturkölbchen mit 2 ml 95%igem O_2 und 5%igem CO_2. Dann wurden die Kulturen mit sterilen Gummistopfen verschlossen und verschieden lange, je nach Versuchsbedingungen, bei 36,5° C im Inkubator aufbewahrt. Bei Bedarf wurde nachbegast (Indikatorzusatz im Medium).

Mediumwechsel

Das Medium wurde mit einer sterilen Einmalspritze und einer sterilen Einmalkanüle abgezogen und zur späteren radioimmunologischen Messung in Teströhrchen eingefroren. (Material: Polystyrol; Fa. WALTER SARSTEDT)
Den Kulturen wurde die entsprechende Menge neues Medium zugesetzt.

Kulturabbruch

Dieser erfolgte nach dem gleichen Verfahren wie der Medienwechsel.

3.2. F S H - N a c h w e i s

Der Nachweis von FSH wurde mit Radioimmunoassay nach der Methode von NIAMID (NATIONAL INSTITUTE OF ARTHRITIS, METABOLISM AND DIGESTIVE DISEASES, NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, Bethesda, Maryland) durchgeführt.

Materialien

Folgende Substanzen wurden von THE NATIONAL INSTITUTE OF ARTHRITIS, METABOLISM AND DIGESTIVE DISEASES (NIAMID) RAT PITUITARY HORMONE DISTRIBUTION PROGRAM freundlicherweise zur Verfügung gestellt:

1. Ratten-follikelstimulierendes-Hormon für die Jodierung NIAMID-Rat FSH-I-1

2. Ratten-follikelstimulierender-Hormon-Standard (Referenzaufbereitung) für Radioimmunoassay NIAMID-Rat FSH-RP-1

3. Anti-Ratten-FSH-Serum (Kaninchen) für Radioimmunoassay NIAMID-A-Rat FSHS-3

Zusätzlich verwandt wurden:

Ein zweiter Antikörper = Antikaninchen Gammaglobulin von Ziegen (Fa. CALBIOCHEM, California)

Puffersubstanzen bestehend aus:
Na_2HPO_4 und NaCl (Fa. MERCK)
Merthiolate (Fa. SERVA)
KH_2PO_4 und EDTA (Fa. MERCK)
Normal Rabbit Serum (WELLCOME)
Zur Jodierung J^{125}- bzw. NaJ^{125}- Lsg. (Fa. AMERSHAM BUCHLER, Frankfurt)

Die Jodierung erfolgte mit Hilfe der Chloramin-T-Methode (GREENWOOD und Mitarb. 1963)
Die Herstellung der Arbeitslösungen und der eigentliche Ansatz des Radioimmunoassay wurde nach der Anweisung von NIAMID durchgeführt.

3.3 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Nach Ermittlung der Mittelwerte und der Standardabweichungen vom Mittelwert erfolgten die Signifikanzberechnungen mit Hilfe des t-Testes nach STUDENT.
Es wurden dabei zunächst die Kontrollgruppe gegen die einzelnen Versuchsgruppen verglichen, bzw. umgekehrt, wenn die Kontrollgruppe die höheren Werte aufwies.
Zusätzlich wurde die Signifikanz innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen berechnet.
Der p-Wert wurde anhand des errechneten t-Wertes und den betreffenden Freiheitsgraden in den Wissenschaftlichen Tabellen, DOCUMENTA GEIGY (6. Auflage, Basel, 1960) nachgeschlagen.

Zur Erläuterung:

- \- bedeutet keine Signifikanz; p-Wert größer als 0,05
- \+ bedeutet signifikant; p-Wert liegt zwischen 0,05 und 0,01
- ++ bedeutet hoch signifikant; p-Wert liegt zwischen 0,01 und 0,005

4. E R G E B N I S S E

Versuch 1

Die Versuchsgruppe umfaßte 20 steril herauspräparierte Rattenhypophysen.
Der Versuchsansatz erfolgte wie bereits angegeben: Aufbewahrung jeder Hypophyse in einem 50 ml Erlenmeyer-Kolben mit 5 ml TCM, Zugabe von Releasinghormon und Binotal, Begasung.
Die Hypophysen wurden auf eine Kontrollgruppe und drei weitere Gruppen mit unterschiedlichen RH-Dosierungen (0,5µg, 1,5µg und 2,5µg) verteilt.
Der Abbruch der Kulturen erfolgte nach fünf Tagen. Es hatte kein Medienwechsel stattgefunden.
Eine mikroskopische Beurteilung der Kulturen ergab, daß am Boden neben einzelnen Erythrozyten auch andere Zellen lagen; teils fibroblastenähnlicher Struktur, teils grössere Zellen, die sich morphologisch wie Hirnzellen darstellten.

In diesem Versuch sollte gezeigt werden, ob durch Zusatz von verschiedenen Dosen LHRH eine Hemmung oder Förderung der FSH-Ausschüttung erfolgte.
Im Vergleich zum Leerwert erfolgte bei allen drei Dosierungen eine signifikant geringere Ausschüttung an FSH.
Die geringste Abnahme der Ausschüttung fand sich bei Zusatz von 0,5µg LHRH. Hier erfolgte im Vergleich zur Kontrollgruppe (Leerwert = 6199ng FSH = 100%) eine Ausschüttung von 66% entsprechend 4068ng FSH.
Die geringste Ausschüttung erfolgte bei der Gruppe mit 1,5µg LHRH mit 2774ng FSH. Dies entspricht 45% vom Leerwert.
Bei Zusatz von 2,5µg LHRH scheint die Hemmung wieder geringer zu sein. Hier erfolgt im Vergleich zur Kontrollgruppe eine Ausschüttung von 59%. Dies entspricht 3630ng FSH.

Tabelle 2: FSH-Ausschüttung in ng/ml

Leerwert	0,5µg LHRH	1,5µg LHRH	2,5µg LHRH
7978	5353	3379	2515
5109	4386	4095	3030
5805	2942	2148	4851
6507	5200	1651	2900
5594	2458	2595	4856
$\bar{x}$ 6199	4068	2774	3630
s ±1115=	±1313=	± 303=	±1132=
18%	32%	11%	31%

Gesamtsummen von FSH der einzelnen Versuchsgruppen in ng/ml:

Leerwert	0,5µg LHRH	1,5µg LHRH	2,5µg LHRH
30993=	20339=	13868=	18152=
100%	66%	45%	59%

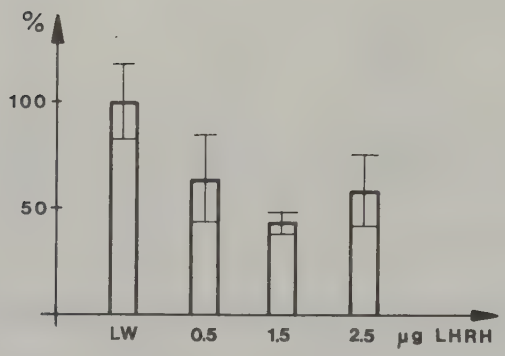
Signifikanz gegen Kontrolle:

0,5µg/ml am 5.Tag +
1,5µg/ml am 5.Tag +
2,5µg/ml am 5.Tag +

Signifikanz innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen:

0,5 zu 1,5µg am 5.Tag -
0,5 zu 2,5µg am 5.Tag -
1,5 zu 2,5µg am 5.Tag -

Abb. 4: FSH-Ausschüttung innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen, wenn Kontrollgruppe = 100%



Versuch 2

Es sollte nun herausgefunden werden, an welchem der insgesamt fünf Versuchstagen eine Verminderung der FSH-Ausschüttung stattfand.
Die Versuchsgruppe umfaßte wiederum 20 steril herauspräparierte Rattenhypophysen. Der Ansatz erfolgte wie im ersten Versuch. Im Gegensatz dazu wurde jedoch täglich das gesamte Medium abgezogen und erneuert. Releasinghormon wurde ebenfalls in der entsprechenden Konzentration zugesetzt. Der Versuch wurde nach fünf Tagen abgebrochen.

Im Vergleich zu Versuch 1 sollte in diesem Versuch herausgefunden werden, an welchen der insgesamt fünf Versuchstagen eine Verminderung der FSH-Ausschüttung stattfand. Sowohl in den drei Versuchsgruppen, als auch bei der Kontrollgruppe erfolgte die größte Ausschüttung am ersten Tag.
Im Vergleich zur Kontrollgruppe erfolgte bei allen drei Dosierungen eine hoch signifikant geringere Ausschüttung an FSH an allen fünf Tagen.
Die geringste Abnahme der FSH-Ausschüttung fand sich hier wiederum, wie beim ersten Versuch, bei der Gruppe mit 0,5µg LHRH (Kontrollgruppe 3001 ng/ml FSH, bei der Gruppe mit 0,5µg LHRH 2443 ng/ml FSH).
Die geringste Ausschüttung an FSH erfolgte bei der Gruppe mit 1,5µg LHRH. Der Peak betrug 1636 ng/ml FSH. Dies entspricht 71% von der Gesamtsumme.
Bei der Gruppe mit 2,5µg LHRH wurde im Vergleich zur vorherigen Gruppe (1,5µg LHRH) wieder etwas mehr FSH ausgeschüttet (Peak bei 2095 ng/ml FSH, entsprechend 82% der Gesamtsumme). Hier scheint die Hemmung, wie bereits in Versuch 1 vermutet, wieder etwas geringer zu sein. Doch auch hier liegen die Meßergebnisse beider Gruppen fast gleich, sodaß keine genaue Aussage gemacht werden kann. Vergleicht man alle drei Konzentrationen, so scheint die Ausscheidungskapazität der Hypophysen ab dem dritten Tag bereits erschöpft zu sein.

Tabelle 3: FSH-Ausschüttung in ng/ml

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
Leerwert	3920	1637	951	214	939
	3391	989	917	530	749
	2909	1080	608	841	536
	1255	911	830	327	424
	3528	1318	785	620	1327
$\bar{x}$	3001	1188	759	506	786
s	±1041=	± 249=	± 187=	± 246=	± 357=
	35%	21%	25%	49%	45%
$\Sigma\bar{x}$	6240 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	48	19	12	8	13
0,5µg LHRH	1417	506	132	12	20
	3128	579	50	178	113
	2932	296	205	150	330
	2816	658	190	132	166
	1924	491	190	400	114
$\bar{x}$	2443	506	152	180	148
s	± 736=	± 156=	± 64=	± 152=	± 14=
	30%	31%	42%	84%	10%
$\Sigma\bar{x}$	3429 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	71	15	4	5	4
1,5µg LHRH	2919	213	132	93	30
	2199	251	178	169	46
	989	458	157	101	51
	1053	307	101	192	120
	1022	44	161	213	79
$\bar{x}$	1636	255	146	154	65
s	± 880=	± 150=	± 30=	± 54=	± 36=
	54%	4%	21%	35%	18%
$\Sigma\bar{x}$	2256 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	73	11	7	7	3
2,5µg LHRH	884	189	200	66	26
	2721	420	67	87	36
	2290	105	98	31	27
	1843	324	72	4	36
	2735	68	336	45	40
$\bar{x}$	2095	221	155	47	33
s	± 770=	± 148=	± 115=	± 32=	± 6=
	37%	67%	74%	68%	18%
$\Sigma\bar{x}$	2551 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	82	9	6	2	1

Prozentuale Zu- bzw. Abnahme der FSH-Ausschüttung, wenn Leerwert = 100% gesetzt wird:

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
Leerwert	100%	100%	100%	100%	100%
0,5µg LHRH	72%	43%	19%	29%	19%
1,5µg LHRH	55%	21%	18%	30%	8%
2,5µg LHRH	70%	19%	19%	9%	4%

Prozentuale Aufteilung der $\Sigma\bar{x}$:

Leerwert = 100%
0,5µg LHRH = 55%
1,5µg LHRH = 36%
2,5µg LHRH = 41%

Signifikanz gegen Kontrolle:

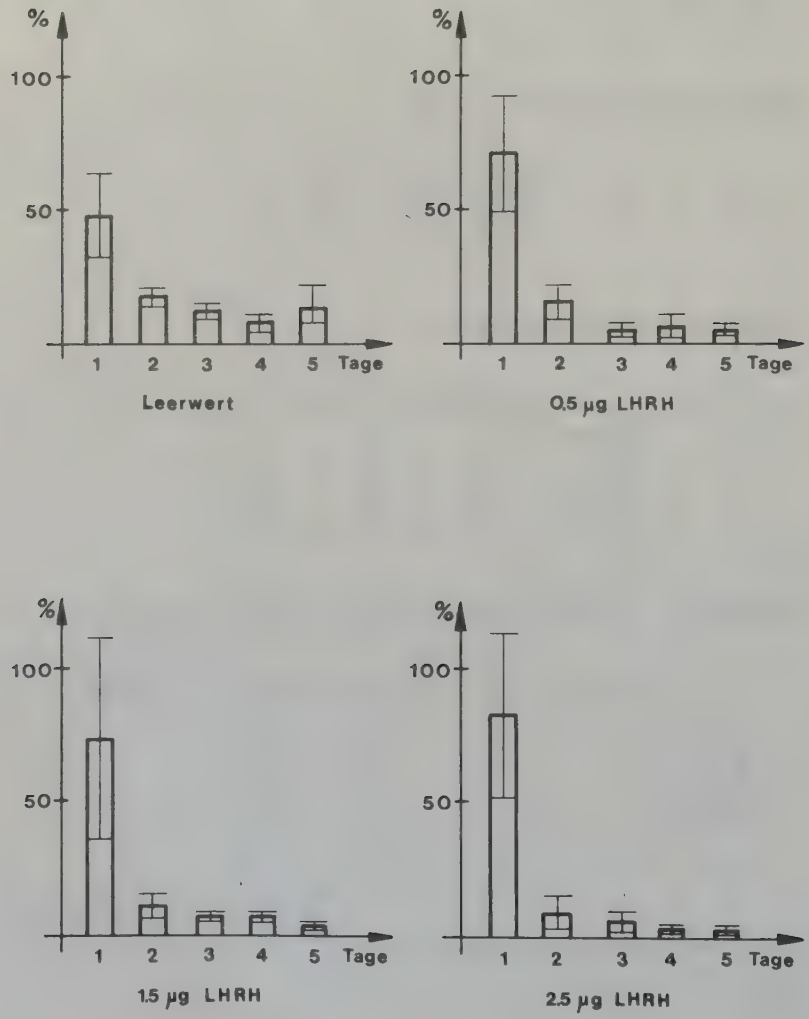
	0,5µg	1,5µg	2,5µg
1.Tag	-	+	+
2.Tag	++	++	++
3.Tag	++	++	++
4.Tag	+	++	++
5.Tag	++	++	++

Signifikanz innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen:

	0,5 zu 1,5µg	0,5 zu 2,5µg	1,5 zu 2,5µg
1.Tag	+	-	-
2.Tag	+	++	-
3.Tag	-	-	-
4.Tag	-	+	++
5.Tag	+	+	+

Abb.5:

Versuch 2: FSH-Ausschüttung in % bei Gesamtsumme $\bar{x}$ = 100%



Versuch 2: FSH-Ausschüttung in % bei Leerwert = 100%

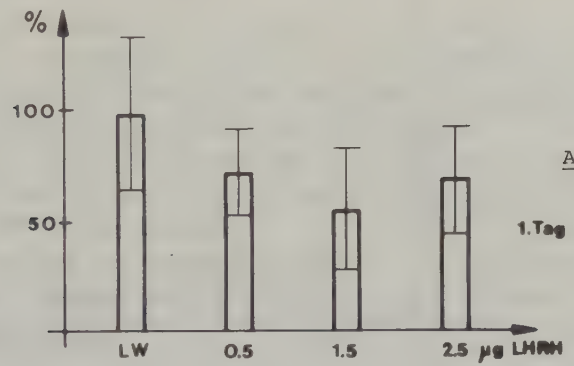


Abb.6

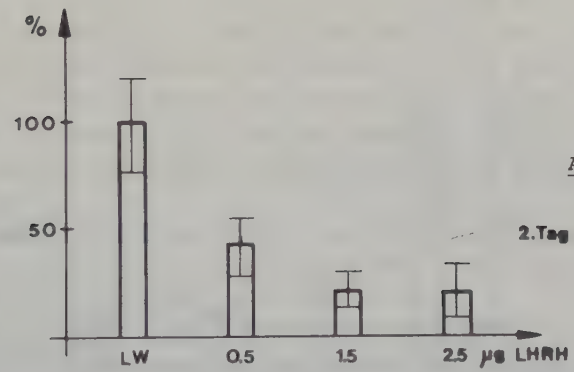


Abb.7

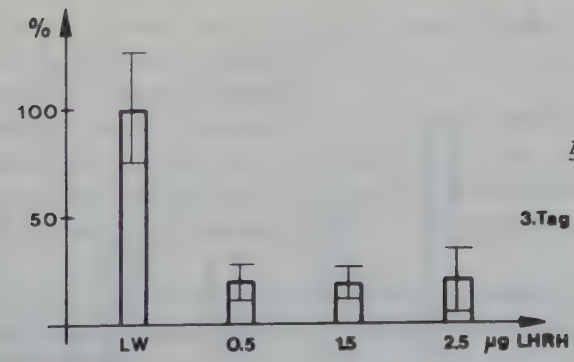


Abb.8

Fortsetzung Versuch 2: FSH-Ausschüttung in % bei Leerwert = 100%

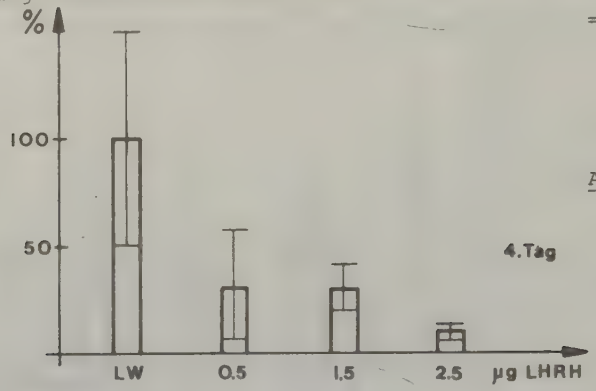


Abb.9

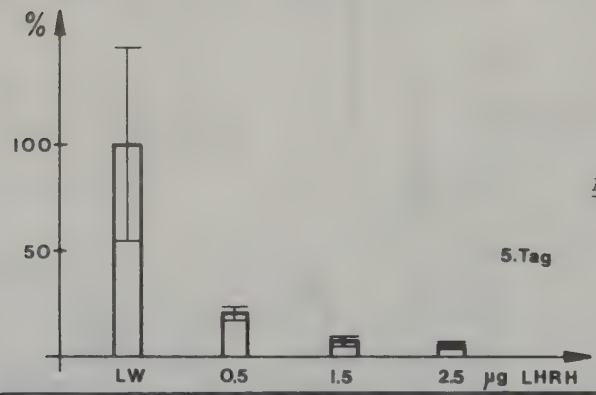


Abb.10

FSH-Ausschüttung in % der Gesamtsummen $\bar{x}$, wenn Leerwert = 100%

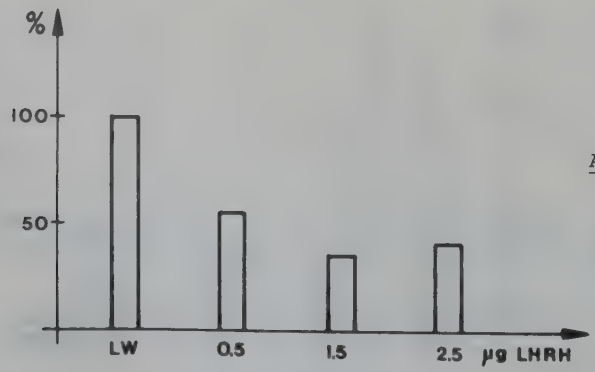


Abb.11

Versuch 3

Während im Versuch 2 die zugesetzte Releasermenge täglich abgezogen und erneuert wurde, sollte dieser Versuch 3 dazu dienen, das Verhalten der FSH-Ausschüttung bei ständig fallender Releaserkonzentration zu untersuchen.
Täglicher Abzug des Mediums bis auf 1 ml, Zugabe von frischem Medium bis zum ursprünglichen Volumen, aber keine neue Zugabe von Releasinghormon.
Die verwandten Konzentrationen entsprachen denen der vorangehenden Versuche. Der Versuchsabbruch fand wieder nach fünf Tagen statt.

Auch hier ergab sich, wie im vorangehenden Versuch die höchste Ausschüttung am ersten Tag bei allen Versuchsgruppen. Es erfolgte dann bis zum fünften Tag ein gleichmäßiger Rückgang. Es hatte jedoch, im Gegensatz zu Versuch 2, jetzt eine Mehrausschüttung an FSH stattgefunden. Bei den ermittelten Ergebnissen läßt sich allerdings keine Signifikanz nachweisen.
Am ersten Tag erhielten wir die größte Ausschüttung bei der Gruppe mit 0,5µg LHRH mit 4476ng/ml FSH = 149% im Vergleich zur Kontrollgruppe (3001ng/ml FSH = 100%).
Am wenigsten schütteten die Hypophysen der Gruppe mit 1,5µg LHRH-Zusatz, nämlich 3725ng/ml FSH = 124%, aus. Die Gruppe mit 2,5µg LHRH dagegen hat wieder eine Ausschüttung von 4330ng/ml FSH = 144%.
Am zweiten Tag hatten wir die höchste Ausschüttung bei der Gruppe mit 2,5µg LHRH (1649ng/ml FSH). Die niedrigste bei 1,5µg LHRH/ml (1494ng/ml FSH).
Diese Tendenz wurde im weiteren Verlauf aufrechterhalten, mit Ausnahme am vierten Tag. Hier hatten wir die höchste Ausschüttung bei der Gruppe mit 0,5µg/ml LHRH-Zusatz (581ng/ml FSH) und die niedrigste bei Zusatz von 2,5µg LHRH (499ng/ml FSH).
Vergleicht man jedoch die Gesamtsummen der einzelnen Gruppen (1. - 5. Tag) untereinander, so erhält man die größte

Ausschüttung bei der Gruppe mit 2,5µg LHRH mit 133%. Die geringste Ausschüttung mit 114% bei der Gruppe mit 1,5µg LHRH.

Tabelle 4: FSH-Ausschüttung in ng/ml

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
Leerwert	3920	1637	951	214	939
	3391	989	917	530	749
	2909	1080	608	841	536
	1255	911	830	327	424
	3528	1318	785	620	1327
$\bar{x}$	3001	1188	759	506	786
s	±1041=	± 294=	± 187=	± 246=	± 357=
	35%	25%	25%	49%	45%
$\Sigma\bar{x}$	6240 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	48	19	12	8	13
0,5µg LHRH	4708	1594	674	428	225
	5286	1616	622	352	111
	4023	952	715	471	520
	4133	1816	928	834	940
	4230	1617	1289	819	682
$\bar{x}$	4476	1519	846	581	495
s	± 524=	± 329=	± 274=	± 229=	± 337=
	12%	22%	32%	39%	68%
$\Sigma\bar{x}$	7917 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	57	19	11	7	6
1,5µg LHRH	5026	1444	366	325	308
	1972	1368	855	546	519
	3685	1391	791	399	399
	3993	1603	728	961	877
	3948	1663	1083	654	692
$\bar{x}$	3725	1494	765	577	559
s	±1105=	± 132=	± 260=	± 250=	± 229=
	30%	9%	34%	43%	41%
$\Sigma\bar{x}$	7120 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	52	21	11	8	8
2,5µg LHRH	4784	1381	916	708	847
	4319	1858	1253	486	884
	4638	1631	972	591	796
	5186	1980	1152	420	865
	2721	1376	785	291	593
$\bar{x}$	4330	1645	1016	499	797
s	± 952=	± 274=	± 188=	± 160=	± 119=
	22%	17%	19%	32%	15%
$\Sigma\bar{x}$	8287 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	52	20	12	6	10

Prozentuale Zu- bzw. Abnahme der FSH-Ausschüttung, wenn Leerwert = 100% gesetzt wird:

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
Leerwert	100%	100%	100%	100%	100%
0,5µg LHRH	149%	128%	112%	115%	63%
1,5µg LHRH	124%	126%	101%	114%	71%
2,5µg LHRH	144%	139%	134%	99%	101%

Prozentuale Aufteilung der $\Sigma\bar{x}$:

Leerwert = 100%
0,5µg LHRH = 127%
1,5µg LHRH = 114%
2,5µg LHRH = 133%

Signifikanz gegen Kontrolle:

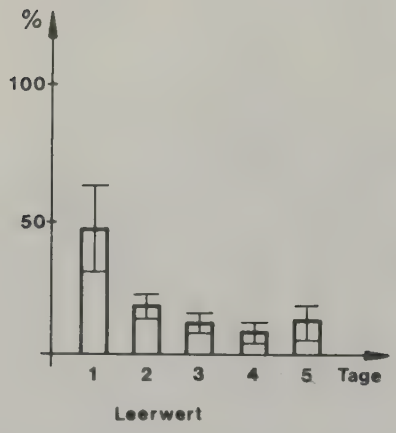
	0,5µg	1,5µg	2,5µg
1.Tag	++	-	+
2.Tag	+	+	+
3.Tag	-	-	+
4.Tag	-	-	-
5.Tag	-	-	-

Signifikanz innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen:

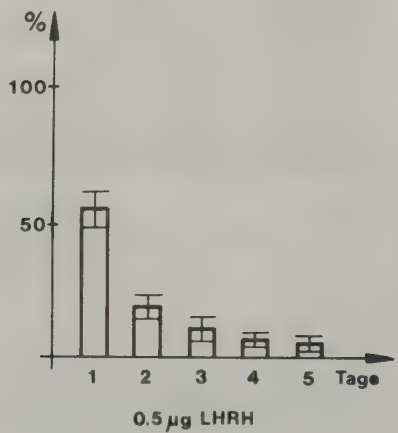
	0,5 zu 1,5µg	0,5 zu 2,5µg	1,5 zu 2,5µg
1.Tag	-	-	-
2.Tag	-	-	-
3.Tag	-	-	+
4.Tag	-	-	-
5.Tag	-	+	+

Abb.12:

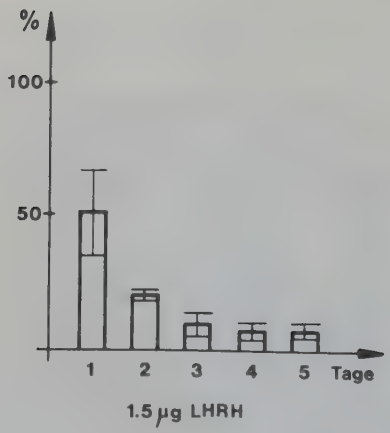
Versuch 3: FSH-Ausschüttung in % bei Gesamtsumme $\bar{x}$ = 100%



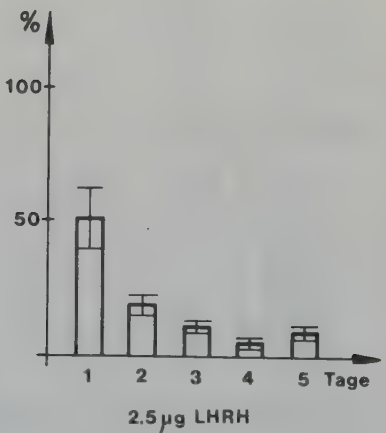
Leerwert



0.5 µg LHRH



1.5 µg LHRH



2.5 µg LHRH

Versuch 3: FSH-Ausschüttung in % bei Leerwert = 100%

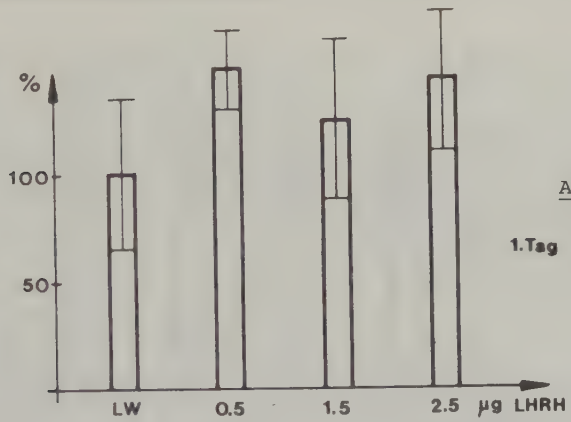


Abb.13

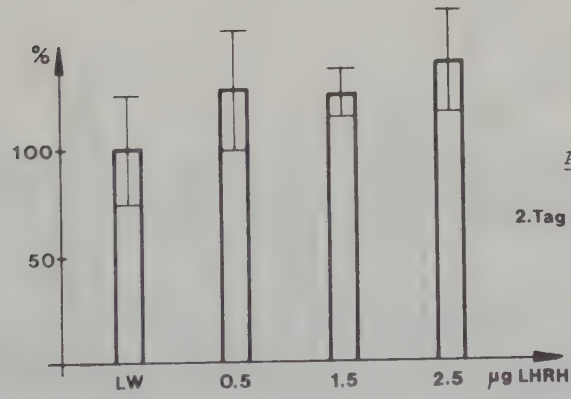


Abb.14

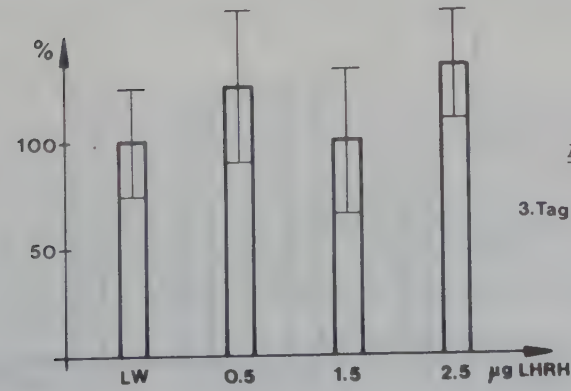


Abb.15

Fortsetzung Versuch 3: FSH-Ausschüttung in % bei Leerwert = 100%

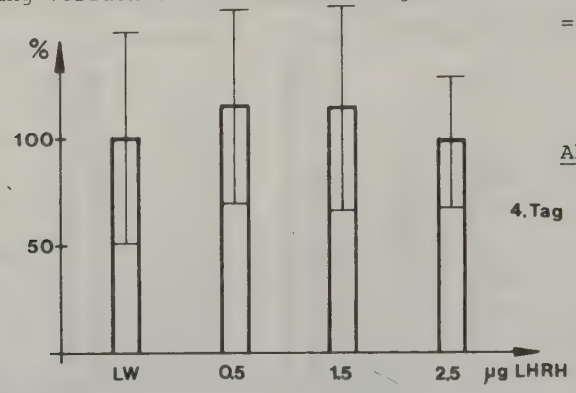


Abb.16

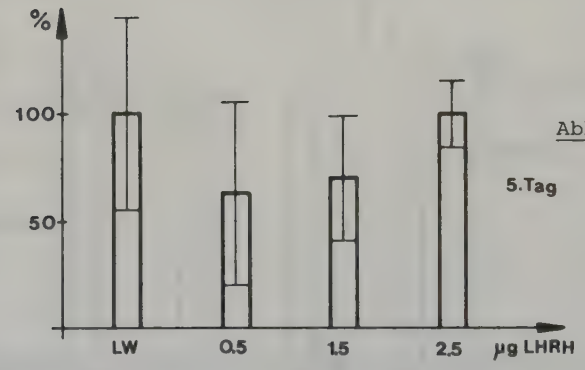


Abb.17

FSH-Ausschüttung in % der Gesamtsummen $\bar{x}$, wenn Leerwert = 100%:

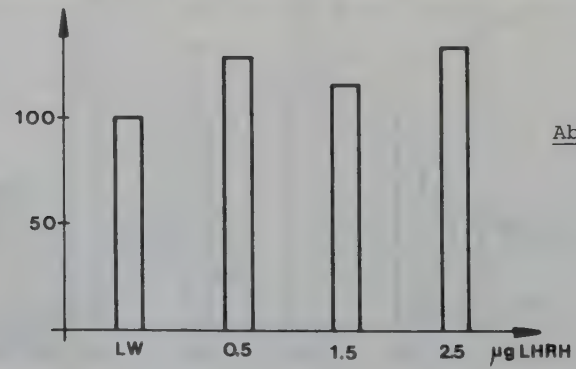


Abb.18

Versuch 4

Im Gegensatz zu Versuch 1 bis 3 wurde hier die FSH-Ausschüttung über zwanzig Tage beobachtet. Es sollte herausgefunden werden, ob eine tägliche Zugabe von Releasinghormon über einen längeren Zeitraum eine eventuelle Neusynthese von FSH bewirken könnte. Der Versuchsablauf fand entsprechend Versuch 2 statt. Es wurden dieselben Releasinghormon-Konzentrationen, nämlich 0,5µg, 1,5µg und 2,5µg/ml, verwandt. Es fand ein täglicher Medienwechsel mit Zusatz der jeweiligen Konzentrationen von LHRH statt.

Es zeigt sich auch hier wieder der typische Kurvenverlauf: Peak am ersten Tag, dann steiler Abfall der Kurven bis zum Versuchsabbruch am zwanzigsten Tag. Es treten zwar bei allen drei Konzentrationen noch kleinere Peaks im weiteren Kurvenverlauf auf, die aber keine nennenswerte Größe verzeichnen.
Ab dem sechsten Tag scheinen die Hypophysen erschöpft zu sein. Sie schütten meist nur noch unter 100ng/ml FSH aus. Es werden daher nur die ersten Tage (1. - 5. Tag) miteinander verglichen.
Beim Vergleich der drei Versuchsgruppen mit der Kontrollgruppe erfolgte bei allen drei Dosierungen eine geringere Ausschüttung, wie in Versuch 2.
Am wenigsten schüttete die Gruppe mit 0,5µg LHRH-Zusatz aus (Mittelwert 3667ng/ml FSH entsprechend 59% im Vergleich zur Kontrollgruppe).
Bei höherer Konzentrierung des LHRH-Zusatzes fand wieder eine größere FSH-Ausschüttung statt. Die Mittelwerte lagen bei den Dosierungen 1,5µg LHRH (4655ng/ml FSH = 75% der Kontrollgruppe) und 2,5µg LHRH (4600ng/ml FSH = 74% der Kontrollgruppe) etwa gleich. Innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen besteht Signifikanz, die aber nicht so sehr ins Gewicht fällt wegen der geringen Höhe der Absolutwerte ab dem sechsten Tag.
Vergleicht man nicht die Gesamtsummen über fünf Tage mit-

einander, sondern nur die Ausschüttungen am ersten Tag, so findet man, daß im Vergleich zur Kontrollgruppe bei den Gruppen mit 0,5 und 2,5µg LHRH-Zusatz sogar eine Mehrausschüttung stattgefunden hat. (Bei 0,5µg LHRH-Zusatz 114% = 3418ng/ml; bei 2,5µg LHRH-Zusatz 110% = 3288ng/ml; Kontrollgruppe 100% = 3001ng/ml FSH).
Eine Neusynthese kann bei täglichem Zusatz von LHRH über einen längeren Zeitraum nicht verzeichnet werden.

Tabelle 5: FSH-Ausschüttung in ng/ml

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
Leerwert	3920	1637	951	214	939
	3391	989	917	530	749
	2909	1080	608	841	536
	1255	911	830	327	424
	3528	1318	785	620	1327
$\bar{x}$	3001	1188	759	506	786
s	±1041= 35%	± 249= 21%	± 187= 25%	± 246= 49%	± 357= 45%
$\Sigma\bar{x}$	6240 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	48	19	12	8	13
0,5µg LHRH	3771	110	112	35	35
	3554	69	80	100	25
	1719	235	18	17	25
	5200	35	16	25	25
	2844	98	48	102	35
$\bar{x}$	3418	109	55	56	29
s	±1278= 37%	± 76= 70%	± 41= 75%	± 42= 75%	± 6= 21%
$\Sigma\bar{x}$	3667 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	93	3	1	1	1
1,5µg LHRH	1365	352	571	147	454
	3525	659	658	190	436
	2328	478	601	184	484
	2414	709	455	186	458
	4390	955	453	371	447
$\bar{x}$	2804	631	548	216	456
s	±1171= 42%	± 231= 37%	± 91= 17%	± 89= 41%	± 18= 4%
$\Sigma\bar{x}$	4655 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	60	14	12	5	10
2,5µg LHRH	3581	696	409	179	212
	3289	732	361	281	169
	2718	474	125	397	125
	4236	660	279	125	25
	2614	843	221	221	25
$\bar{x}$	3288	681	279	241	111
s	± 664= 20%	± 135= 20%	± 113= 41%	± 104= 43%	± 84= 76%
$\Sigma\bar{x}$	4600 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	71	15	6	5	2

Prozentuale Zu- bzw. Abnahme der FSH-Ausschüttung, wenn Leerwert = 100% gesetzt wird:

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
Leerwert	100%	100%	100%	100%	100%
0,5µg LHRH	114%	9%	7%	11%	4%
1,5µg LHRH	93%	53%	72%	43%	58%
2,5µg LHRH	110%	57%	37%	48%	14%

Prozentuale Aufteilung der $\Sigma\bar{x}$:

Leerwert = 100%
0,5µg LHRH = 59%
1,5µg LHRH = 75%
2,5µg LHRH = 74%

Signifikanz innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen:

	0,5 zu 1,5µg	0,5 zu 2,5µg	1,5 zu 2,5µg
1.Tag	-	-	-
2.Tag	++	++	-
3.Tag	++	++	++
4.Tag	++	++	-
5.Tag	++	+	++
6.Tag	+	-	+
7.Tag	++	++	-
8.Tag	+	+	++
9.Tag	++	+	-
10.Tag	++	-	+
11.Tag	+	-	+
12.Tag	++	-	+
13.Tag	+	+	++
14.Tag	++	-	-
15.Tag	-	++	++
16.Tag	-	+	++
17.Tag	++	-	++
18.Tag	-	+	++
19.Tag	-	-	-
20.Tag	-	++	++

Gesamtausschüttung absolut:

	1.-5.Tag	6.-20.Tag	1.-20.Tag
0,5µg LHRH	3667	1349	5016
1,5µg LHRH	4655	2598	7253
2,5µg LHRH	4600	974	5574

FSH-Ausschüttung in ng/ml 6.-20.Tag:

0,5µg LHRH

	6.Tag	7.Tag	8.Tag	9.Tag	10.Tag
	19	25	28	25	25
	25	25	40	25	25
	25	25	25	25	25
	25	25	25	25	25
	25	25	25	25	31
$\bar{x}$	24	25	29	25	26
s	± 3= 13%	± 0= 0%	± 7= 24%	± 0= 0%	± 3= 12%
$\Sigma\bar{x}$	(1.-20.Tag) 5016 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	0,5	0,5	1	0,5	0,5

	11.Tag	12.Tag	13.Tag	14.Tag	15.Tag
	25	25	34	25	78
	25	25	25	100	96
	25	25	171	36	85
	25	25	166	124	231
	25	25	85	49	245
$\bar{x}$	25	25	96	66	147
s	± 0= 0%	± 0= 0%	± 10= 10%	± 42= 64%	± 83= 56%
$\Sigma\bar{x}$	5016 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	0,5	0,5	2	1	3

	16.Tag	17.Tag	18.Tag	19.Tag	20.Tag
	80	45	276	205	146
	233	25	317	75	155
	280	75	168	98	367
	49	25	408	97	397
	41	56	144	74	465
$\bar{x}$	137	45	263	110	306
s	± 112= 82%	± 21= 47%	± 109= 41%	± 54= 49%	± 146= 48%
$\Sigma\bar{x}$	5016 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	3	1	5	2	6

FSH-Ausschüttung in ng/ml 6.-20.Tag:

1,5µg LHRH

	6.Tag	7.Tag	8.Tag	9.Tag	10.Tag
	268	199	57	277	406
	66	71	45	80	66
	25	56	54	95	143
	187	244	25	193	173
	274	142	25	93	367
$\bar{x}$	164	142	41	148	231
s	± 114=	± 81=	± 15=	± 85=	± 148=
	70%	57%	37%	57%	64%
$\Sigma\bar{x}$	(1.-20.Tag) 7253 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	2	2	0,5	2	3

	11.Tag	12.Tag	13.Tag	14.Tag	15.Tag
	271	122	134	231	121
	302	107	203	83	210
	176	215	258	209	186
	42	115	125	206	145
	45	54	193	215	137
$\bar{x}$	167	123	183	189	160
s	± 122=	± 58=	± 55=	± 60=	± 37=
	73%	47%	30%	32%	23%
$\Sigma\bar{x}$	7253 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	2	2	3	3	2

	16.Tag	17.Tag	18.Tag	19.Tag	20.Tag
	154	255	215	125	97
	263	254	411	106	115
	301	156	440	145	224
	89	206	222	136	316
	151	135	270	145	319
$\bar{x}$	192	201	312	131	214
s	± 88=	± 55=	± 107=	± 16=	± 106=
	46%	27%	34%	12%	50%
$\Sigma\bar{x}$	7253 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	3	3	4	2	3

FSH-Ausschüttung in ng/ml 6.-20.Tag:

2,5µg LHRH

	6.Tag	7.Tag	8.Tag	9.Tag	10.Tag
	25	25	25	119	135
	25	213	9	166	25
	25	151	1	25	25
	34	137	25	25	25
	68	78	13	114	25
$\bar{x}$	35	121	15	90	57
s	± 19= 54%	± 72= 60%	± 10= 67%	± 63= 70%	± 48= 84%
$\Sigma\bar{x}$	(1.-20.Tag) 5574 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	1	2	0	2	1

	11.Tag	12.Tag	13.Tag	14.Tag	15.Tag
	90	28	25	25	19
	25	25	25	25	25
	25	49	108	125	8
	25	25	25	205	25
	25	25	31	225	12
$\bar{x}$	38	41	43	121	18
s	± 29= 76%	± 24= 24%	± 37= 86%	± 95= 79%	± 8= 44%
$\Sigma\bar{x}$	5574 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	1	1	1	2	0

	16.Tag	17.Tag	18.Tag	19.Tag	20.Tag
	25	84	175	190	25
	25	85	197	102	93
	68	25	145	180	25
	66	25	25	141	81
	93	25	25	25	25
$\bar{x}$	55	49	113	128	50
s	± 30= 55%	± 33= 67%	± 83= 73%	± 67= 52%	± 34= 68%
$\Sigma\bar{x}$	5574 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	1	1	2	2	1

Versuch 4: FSH-Ausschüttung in ng/ml im Verlauf von 20 Tagen

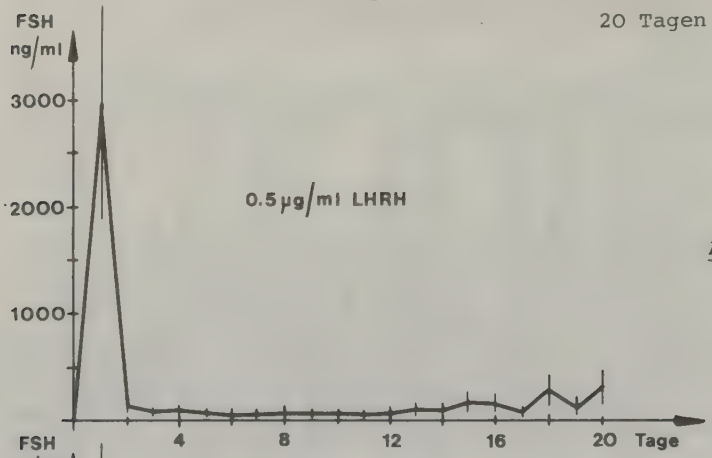


Abb.19

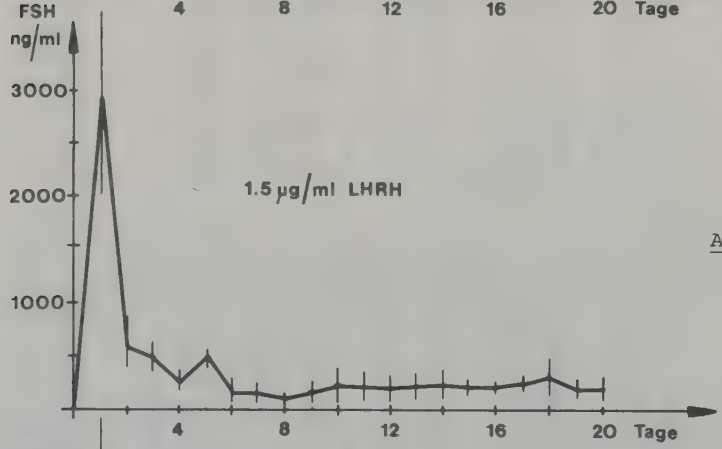


Abb.20

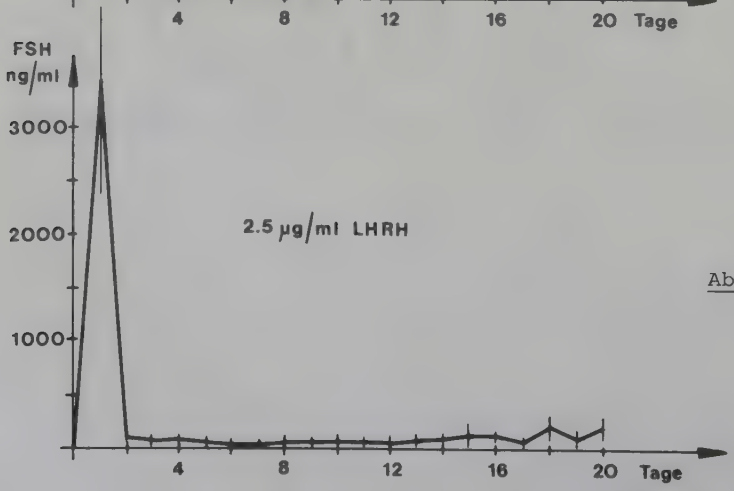


Abb.21

Abb.22:
Versuch 4: FSH-Ausschüttung in % bei Leerwert = 100%

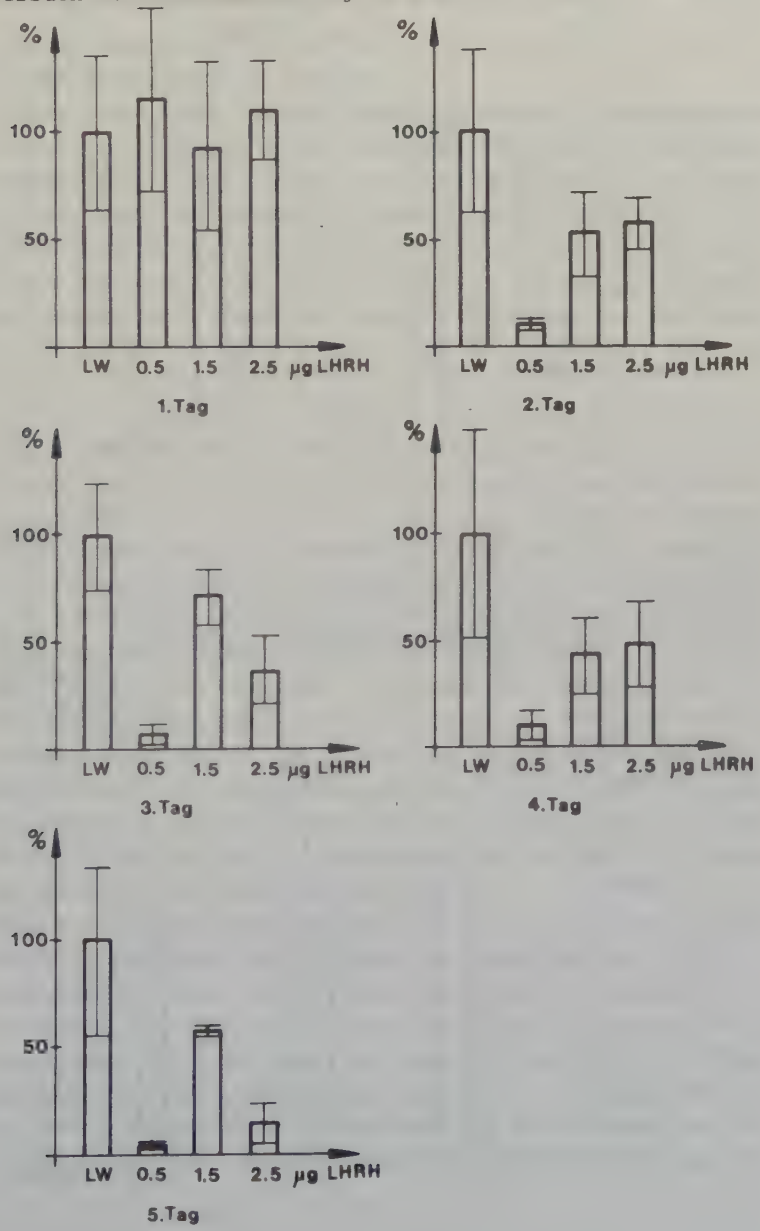


Abb.23:
Versuch 4: Prozentuale Aufteilung der Gesamtsummen $\bar{x}$ (1.-5.Tag) bei Leerwert = 100%

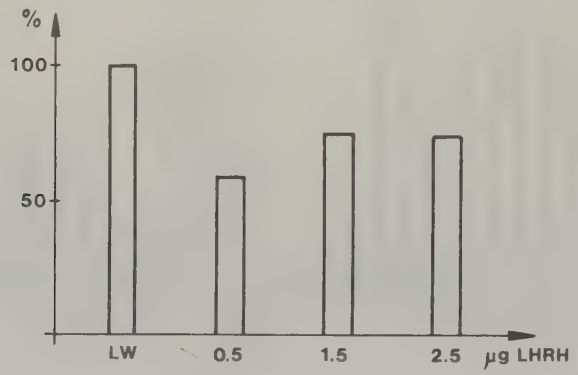
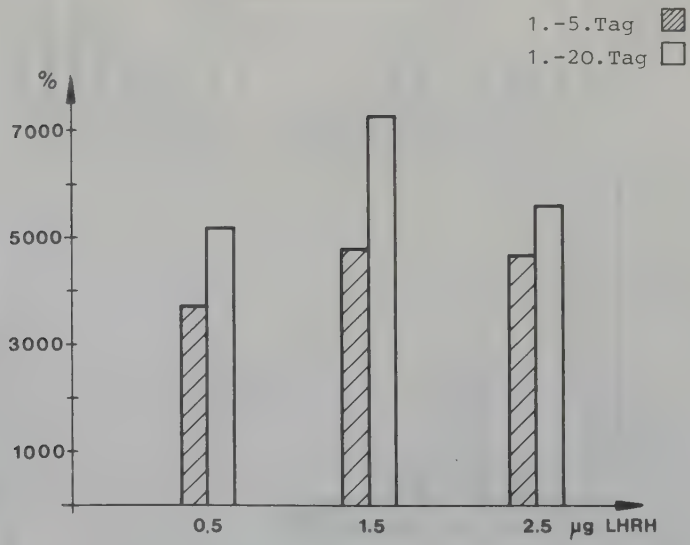


Abb.24:
Versuch 4: Vergleich der Gesamtsummen $\bar{x}$ absolut



Versuch 5:

Dieser Versuch diente zur kinetischen Darstellung der FSH-Ausschüttung über 36 Stunden.
Entsprechend den früheren Versuchen wurden Gruppen gebildet, sodaß ein Leerwert und drei weitere Gruppen mit den LHRH-Dosierungen O,5µg, 1,5µg und 2,5µg vorlagen. In der ersten Stunde nach Versuchsansatz wurden viertelstündlich je O,5ml Medium abgezogen und frisch zugesetzt. Es erfolgte keine erneute Zugabe von LHRH. Später wurden die Wechsel halbstündlich, stündlich, dann in Abständen von zwei, drei, vier und fünf Stunden durchgeführt.

Wie aus den Abbildungen 25, 26, 27 und 28 ersichtlich, wird sowohl bei der Kontrollgruppe als auch bei den drei Versuchsgruppen innerhalb der ersten vier Stunden am meisten FSH in Bezug auf die Gesamtmenge ausgeschüttet (Kontrolle 47%, O,5µg LHRH 62%, 1,5µg LHRH 47% und 2,5µg LHRH 45%). Bei der Kontrollgruppe erfolgt der höchste Release mit 150ng/ml entsprechend 9% der Gesamtsumme bereits 15 Minuten nach Versuchsansatz. In der ersten Stunde werden insgesamt 415ng/ml FSH (=26%) ausgeschüttet. Zwischen 4-8 Stunden werden noch 11% (178ng/ml) an FSH ausgeschüttet. Anschließend erfolgt wieder eine leichte Zunahme des FSH-Releases; in der Zeit zwischen 18-22 Stunden 14%. Bis zum Versuchsabbruch nach 36 Stunden werden nur noch unbedeutende Mengen an FSH ausgeschüttet.
Bei Zusatz von O,5µg LHRH erscheint der erste und zugleich höchste Peak nach zwei Stunden mit 308ng/ml FSH (17% Gesamtausschüttung). Dieser Wert weist keine Signifikanz auf. Innerhalb der ersten vier Stunden werden 1128 ng/ml FSH = 62% ausgeschüttet. Dies würde im Vergleich zur Kontrolle eine Zunahme der FSH-Ausschüttung bedeuten (Kontrolle 745ng).
In den folgenden vier Stunden erfolgt ein Release von 14% (= 252ng/ml FSH). Dies bedeutet im Vergleich zum Leerwert

ebenfalls eine Mehrausschüttung. 12-18 Stunden nach Versuchsansatz werden 132ng/ml FSH entsprechend 8% ausgeschüttet. Für den Rest des Versuchsablaufes werden wie bei der Kontrollgruppe nur noch geringe FSH-Mengen ausgeschüttet. Ein Vergleich der Gesamtausschüttung mit der Kontrolle ergibt eine Zunahme des Releases um 15%. Im Gegensatz hierzu scheint bei der Gruppe mit Zusatz von 1,5µg LHRH eine Hemmung der FSH-Ausschüttung vorzuliegen. Ein Vergleich der Gesamtsummen ergibt eine Abnahme um 28% (Kontrolle 1579ng/ml und 1,5µg LHRH 1136ng/ml). Auch hier werden in den ersten vier Stunden 47% der Gesamtmenge ausgeschüttet. In den folgenden vier Stunden 13% (151ng/ml) und in der Zeit 12-18 Stunden nach Versuchsansatz noch 9% (105ng/ml). Die erhaltenen Meßergebnisse liegen alle unter denen der Kontrollgruppe. Sie sind zum größten Teil nicht signifikant. Bis zum Versuchsabbruch ist kein erheblicher FSH-Release mehr zu verzeichnen.

Bei Zusatz von 2,5µg LHRH liegen die Meßwerte während des gesamten Versuchsablaufes über denen der Kontrolle. Ein Vergleich der Gesamtsumme mit der Kontrolle zeigt, daß eine Ausschüttung von 217% erfolgt. In dieser Versuchsgruppe ist der höchste FSH-Release überhaupt zu verzeichnen. Hier erscheint nach 30 Minuten ein Peak von 246ng/ml (=7%). Dieser Wert ist gegenüber den Kontrollen und innerhalb den einzelnen Versuchsgruppen signifikant. Wie bei den anderen Versuchsgruppen wird auch hier innerhalb der ersten vier Stunden am meisten FSH ausgeschüttet (45%). In den folgenden vier Stunden noch 16% (542ng/ml). 12-18 Stunden nach Versuchsansatz werden noch 11% (385ng/ml) ausgeschüttet. Im weiteren Versuchsablauf ist kein bedeutender Release mehr zu verzeichnen.

Tabelle 6: FSH-Ausschüttung in ng/ml ohne Zusatz von LHRH

Leerwert	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.
	133	71	36	68	95
	160	41	80	70	135
	180	49	91	58	87
	126	165	162	167	155
$\bar{x}$	150	82	92	91	118
s	± 25= 17%	± 57= 69%	± 52= 56%	± 51= 56%	± 32= 27%
$\Sigma\bar{x}$	1579 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	9	5	6	6	7

	120 Min.	150 Min.	3 Std.	4 Std.	5 Std.
	59	49	17	25	47
	106	37	41	22	53
	34	89	49	33	50
	119	47	56	60	45
$\bar{x}$	80	56	41	35	49
s	± 40= 50%	± 23= 41%	± 17= 42%	± 17= 49%	± 4= 8%
$\Sigma\bar{x}$	1579 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	5	4	3	2	6

	6 Std.	8 Std.	10 Std.	12 Std.	15 Std.
	39	67	85	73	127
	69	67	66	57	37
	44	132	118	68	108
	57	41	51	72	67
$\bar{x}$	52	77	80	68	85
s	± 14= 27%	± 39= 51%	± 29= 36%	± 7= 10%	± 41= 48%
$\Sigma\bar{x}$	1579 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	3	5	5	4	5

	18 Std.	22 Std.	26 Std.	30 Std.	36 Std.
	178	37	109	176	127
	90	46	42	77	56
	88	102	80	74	49
	175	31	56	41	57
$\bar{x}$	133	54	72	92	72
s	± 51= 38%	± 33= 61%	± 29= 40%	± 58= 63%	± 37= 51%
$\Sigma\bar{x}$	1579 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	8	3	5	6	5

Tabelle 7: FSH-Ausschüttung in ng/ml - 0,5µg LHRH-Zusatz

0,5µg LHRH	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.
	144	114	88	104	136
	88	94	72	156	90
	94	100	63	59	97
	60	54	39	44	234
$\bar{x}$	97	91	66	91	139
s	± 35= 36%	± 26= 29%	± 20= 30%	± 50= 55%	± 66= 48%
$\Sigma\bar{x}$	1823 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	5	5	4	5	8

	120 Min.	150 Min.	3 Std.	4 Std.	5 Std.
	352	198	181	86	123
	500	336	53	84	130
	317	64	97	79	98
	66	57	52	54	35
$\bar{x}$	308	164	96	76	97
s	±180= 58%	±132= 80%	± 61= 63%	± 15= 20%	± 43= 44%
$\Sigma\bar{x}$	1823 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	17	9	5	4	5

	6 Std.	8 Std.	10 Std.	12 Std.	15 Std.
	61	110	60	49	61
	100	132	81	60	90
	55	71	51	32	71
	41	50	42	23	42
$\bar{x}$	64	91	59	41	66
s	± 25= 39%	± 37= 41%	± 17= 29%	± 17= 41%	± 20= 30%
$\Sigma\bar{x}$	1823 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	4	5	3	2	4

	18 Std.	22 Std.	26 Std.	30 Std.	36 Std.
	44	62	39	46	71
	138	127	57	86	71
	51	41	23	41	42
	31	38	44	25	27
$\bar{x}$	66	67	41	50	53
s	± 49= 74%	± 41= 61%	± 14= 34%	± 26= 52%	± 22= 41%
$\Sigma\bar{x}$	1823 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	4	4	2	3	3

Tabelle 8: FSH-Ausschüttung in ng/ml - 1,5µg LHRH-Zusatz

1,5µg LHRH	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	90 Min.
	111	74	63	96	39
	64	46	31	86	61
	75	56	61	65	81
	45	38	61	38	40
$\bar{x}$	74	54	54	71	55
s	± 28= 38%	± 16= 30%	± 15= 28%	± 26= 37%	± 20= 36%
$\Sigma\bar{x}$	1136 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	7	5	5	6	5

	120 Min.	150 Min.	3 Std.	4 Std.	5 Std.
	107	49	54	104	37
	52	36	24	31	44
	66	67	15	44	56
	32	88	38	60	42
$\bar{x}$	64	60	33	60	45
s	± 32= 50%	± 23= 38%	± 17= 51%	± 32= 53%	± 8= 18%
$\Sigma\bar{x}$	1136 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	6	5	3	5	4

	6 Std.	8 Std.	10 Std.	12 Std.	15 Std.
	30	90	37	100	106
	53	32	13	17	64
	107	16	24	25	136
	83	13	16	58	30
$\bar{x}$	68	38	23	50	84
s	± 34= 50%	± 36= 94%	± 11= 48%	± 38= 76%	± 47= 56%
$\Sigma\bar{x}$	1136 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	6	3	2	4	7

	18 Std.	22 Std.	26 Std.	30 Std.	36 Std.
	44	50	65	60	112
	12	46	90	49	59
	13	107	68	54	54
	13	84	107	43	76
$\bar{x}$	21	72	83	52	75
s	± 16= 76%	± 29= 40%	± 20= 24%	± 7= 13%	± 26= 35%
$\Sigma\bar{x}$	1136 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	2	6	7	5	7

Tabelle 9: FSH-Ausschuttung in ng ml - 2,5ug LHRH-Gaben

2,5ug LHRH	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.	90 min.
	173	146	113	79	106
	168	134	164	125	120
	364	290	324	273	215
	116	410	70	136	113
$\bar{x}$	205	246	164	153	164
s	± 109= 53%	± 130= 53%	± 111= 66%	± 84= 55%	± 75= 46%
$\Sigma\bar{x}$	3471 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	6	7	5	4	5

	120 Min.	150 Min.	3 Std.	4 Std.	5 Std.
	147	99	190	157	141
	104	109	109	117	126
	240	276	225	272	329
	72	166	85	80	104
$\bar{x}$	141	163	152	152	175
s	± 73= 52%	± 87= 53%	± 66= 43%	± 84= 55%	± 104= 59%
$\Sigma\bar{x}$	3471 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	4	5	4	4	5

	6 Std.	8 Std.	10 Std.	12 Std.	15 Std.
	248	195	155	165	173
	121	138	114	122	173
	284	278	306	357	330
	120	58	76	49	45
$\bar{x}$	200	167	170	173	180
s	± 93= 47%	± 98= 59%	± 101= 59%	± 132= 76%	± 117= 65%
$\Sigma\bar{x}$	3471 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	6	5	5	5	5

	18 Std.	22 Std.	26 Std.	30 Std.	34 Std.
	157	280	174	152	188
	222	118	128	93	170
	349	242	248	197	267
	96	54	35	44	53
$\bar{x}$	205	188	146	122	155
s	± 107= 52%	± 120= 64%	± 89= 61%	± 87= 55%	± 93= 60%
$\Sigma\bar{x}$	3471 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	6	5	4	3	5

Prozent- und Promillewerte der Einkommen der Einkommensteuerpflichtigen, deren Lebensalter = 25 Jahre ist und mehr als:

	1 Mio.	10 Mio.	50 Mio.	100 Mio.
Lebensalter	100%	100%	100%	100%
0,5pro Cent	5%	11%	2%	10%
1,5pro Mille	4%	6%	5%	7%
2,5pro Mille	11%	83%	21%	183%

	50 Mio.	100 Mio.	150 Mio.	1 Md.
Lebensalter	100%	100%	100%	100%
0,5pro Cent	11%	18%	25%	2 46%
1,5pro Mille	4%	8%	14%	8%
2,5pro Mille	14%	11%	25%	17%

	4 Md.	5 Md.	6 Md.	8 Md.
Lebensalter	100%	100%	100%	100%
0,5pro Cent	21%	13%	12%	11%
1,5pro Mille	11%	8%	13%	6%
2,5pro Mille	6 46	31%	28%	21%

	10 Md.	12 Md.	15 Md.	18 Md.
Lebensalter	100%	100%	100%	100%
0,5pro Cent	16%	8%	18%	9%
1,5pro Mille	23%	15%	9%	15%
2,5pro Mille	21%	2 46	21%	1 46

	22 Md.	25 Md.	30 Md.	35 Md.
Lebensalter	100%	100%	100%	100%
0,5pro Cent	13%	5%	14%	7%
1,5pro Mille	14%	11%	8%	10%
2,5pro Mille	3 46	2 1%	1 1%	2 1%

Prozent- und Promillewerte über 35:

Lebensalter	= 100%
0,5pro Cent	= 11%
1,5pro Mille	= 8%
2,5pro Mille	= 2 1%

Signifikanz gegen Kontrolle:

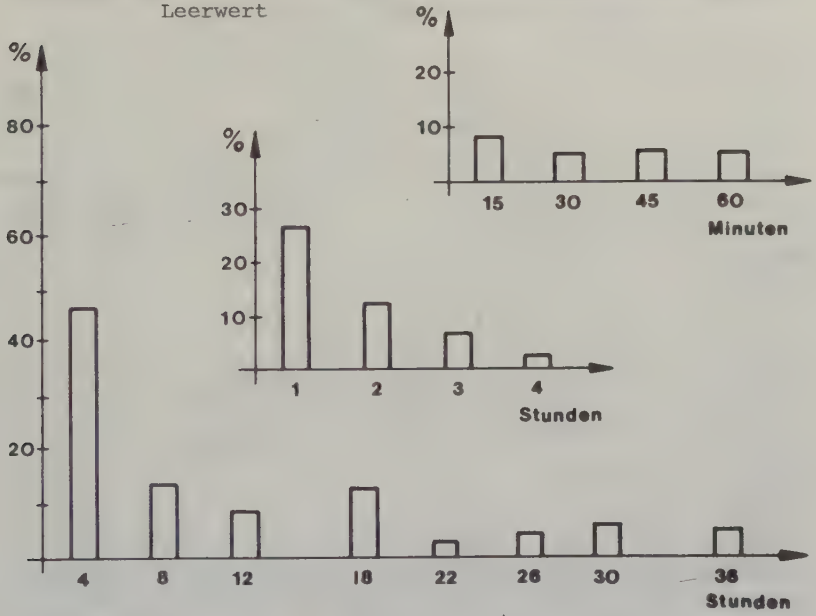
	0,5µg	1,5µg	2,5µg
15 Min.	+	++	-
30 Min.	-	-	+
45 Min.	-	-	-
60 Min.	-	-	-
90 Min.	-	++	-
120 Min.	+	-	-
150 Min.	-	-	+
3 Std.	-	-	++
4 Std.	++	-	+
5 Std.	+	-	+
6 Std.	-	-	+
8 Std.	-	-	+
10 Std.	-	++	-
12 Std.	+	-	-
15 Std.	-	-	-
18 Std.	+	++	-
22 Std.	-	-	+
26 Std.	+	-	-
30 Std.	-	-	-
36 Std.	-	-	-

Signifikanz innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen:

	0,5 zu 1,5µg	0,5 zu 2,5µg	1,5 zu 2,5µg
15 Min.	-	-	+
30 Min.	+	+	+
45 Min.	-	+	+
60 Min.	-	-	+
90 Min.	+	-	+
120 Min.	+	-	+
150 Min.	-	-	+
3 Std.	+	-	++
4 Std.	-	+	+
5 Std.	+	-	+
6 Std.	-	-	+
8 Std.	+	-	+
10 Std.	++	+	+
12 Std.	-	+	+
15 Std.	-	+	-
18 Std.	+	+	++
22 Std.	-	+	+
26 Std.	++	+	-
30 Std.	-	+	+
36 Std.	-	+	-

Abb.25:

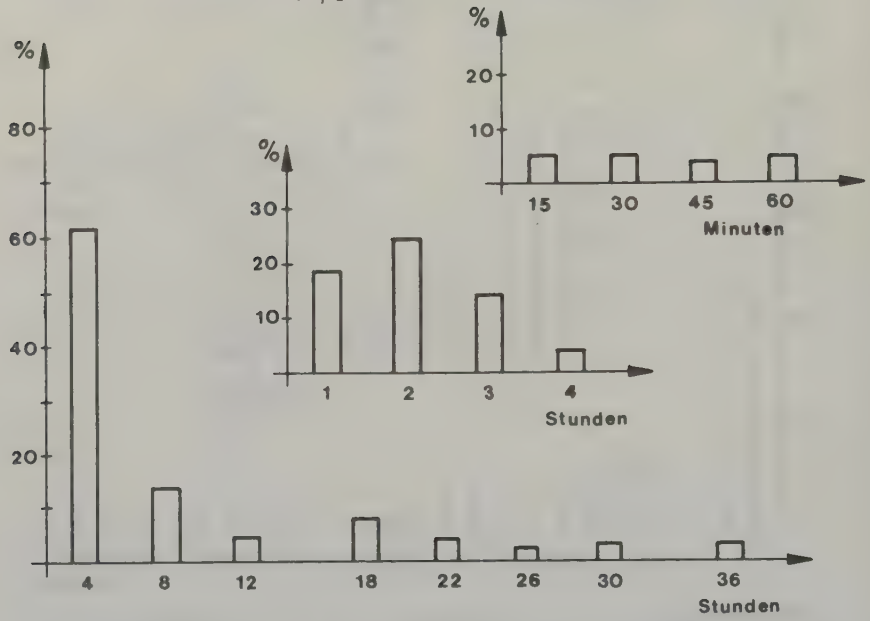
Versuch 5: FSH-Ausschüttung in % der Gesamtausschüttung
Leerwert



FSH-Ausschüttung (ng/ml)	im Zeitraum von ... bis...	% in Bezug zur Gesamtausschüttung
150	0-15 Min	9
82	15-30 Min	5
92	30-45 Min	6
91	45-60 Min	6
415	0- 1 Std	26
198	1- 2 Std	12
97	2- 3 Std	7
35	3- 4 Std	2
745	0- 4 Std	47
178	4- 8 Std	11
148	8-12 Std	9
218	12-18 Std	14
54	18-22 Std	3
72	22-26 Std	5
92	26-30 Std	6
72	30-36 Std	5

Abb.26:

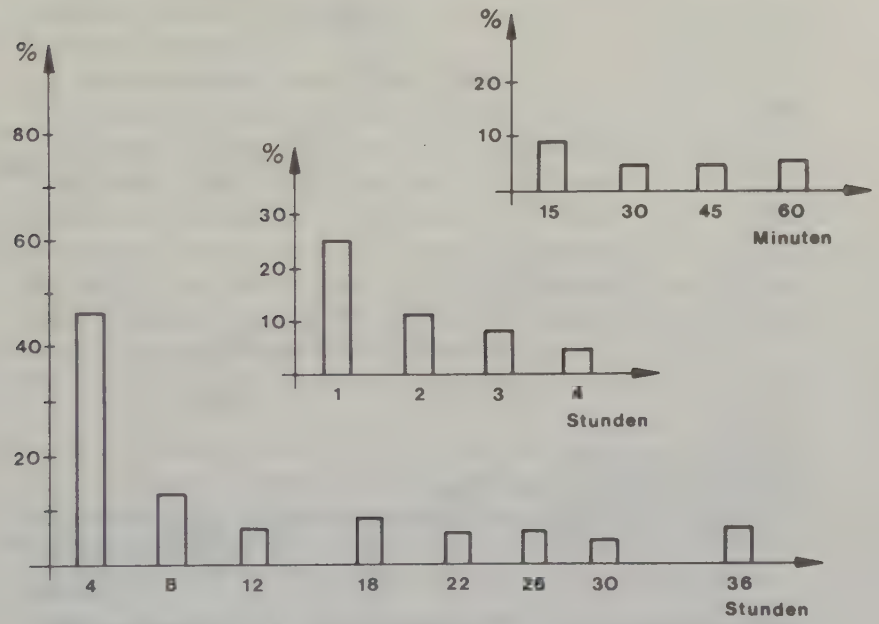
Versuch 5: FSH-Ausschüttung in % der Gesamtausschüttung
Zusatz: 0,5µg LHRH



FSH-Ausschüttung (ng/ml)	im Zeitraum von ... bis ...	% in Bezug zur Gesamtausschüttung
97	0-15 Min	5
91	15-30 Min	5
66	30-45 Min	4
91	45-60 Min	5
345	0- 1 Std	19
447	1- 2 Std	25
260	2- 3 Std	14
76	3- 4 Std	4
1128	0- 4 Std	62
252	4- 8 Std	14
100	8-12 Std	5
132	12-18 Std	8
67	18-22 Std	4
41	22-26 Std	2
50	26-30 Std	3
53	30-36 Std	3

Abb.27:

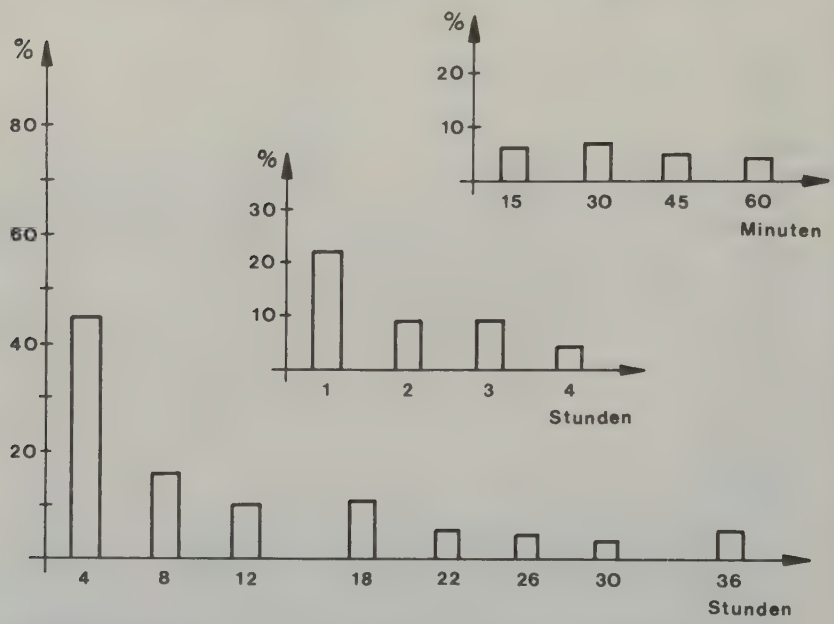
Versuch 5: FSH-Ausschüttung in % der Gesamtausschüttung
Zusatz: 1,5µg LHRH



FSH-Ausschüttung (ng/ml)	im Zeitraum von ... bis ...	% in Bezug zur Gesamtausschüttung
74	0-15 Min	7
54	15-30 Min	5
54	30-45 Min	5
71	45-60 Min	6
253	0- 1 Std	25
119	1- 2 Std	11
99	2- 3 Std	8
60	3- 4 Std	5
531	0- 4 Std	47
151	4- 8 Std	13
73	8-12 Std	6
105	12-18 Std	9
72	18-22 Std	6
83	22-26 Std	7
52	26-30 Std	5
75	30-36 Std	7

Abb.28:

Versuch 5: FSH-Ausschüttung in % der Gesamtausschüttung
Zusatz: 2,5µg LHRH



FSH-Ausschüttung (ng/ml)	im Zeitraum von ... bis ...	% in Bezug zur Gesamtausschüttung
205	0-15 Min	6
246	15-30 Min	7
169	30-45 Min	5
153	45-60 Min	4
773	0- 1 Std	22
310	1- 2 Std	9
315	2- 3 Std	9
152	3- 4 Std	4
1550	0- 4 Std	45
542	4- 8 Std	16
343	8-12 Std	10
385	12-18 Std	11
188	18-22 Std	5
146	22-26 Std	4
122	26-30 Std	3
155	30-36 Std	5

Versuch 6

Hier wurde untersucht, wie sich ein gemeinsamer Zusatz von Releasinghormon und Acetylsalicylsäure auf die Ausschüttung von FSH auswirkt.
Die Versuchsaufteilung beinhaltet:

Kontrollgruppe
Gruppe mit Dosis 0,1mg ACS + 0,5µg LHRH
Gruppe mit Dosis 0,5mg ACS + 0,5µg LHRH
Gruppe mit Dosis 1 mg ACS + 0,5µg LHRH

Der Medienwechsel erfolgte entsprechend Versuch 3. So wurde das Medium täglich bis auf ein ml abgezogen und frisches Medium bis zum ursprünglichen Volumen zugegeben. Es fand jedoch keine erneute Zugabe von LHRH und ACS statt.
Der Versuchsabbruch erfolgte nach fünf Tagen.

Auch bei gemeinsamem Zusatz von ACS und LHRH ergibt sich wie in früheren Versuchen der typische Kurvenverlauf: Peak am ersten Tag und ab dem zweiten Tag flacher Abfall bis zum fünften Tag.
Vergleicht man die Ergebnisse der einzelnen Gruppen am ersten Tag, so ergibt sich bei Zusatz von 0,5µg LHRH und 0,1mg ACS eine geringere Ausschüttung im Vergleich zur Kontrollgruppe (Kontrollgruppe: $\bar{x}$ = 3008ng/ml FSH = 100%; Zusatz von 0,5µg LHRH und 0,1mg ACS: 2420ng/ml FSH = 81%). Bei Zusatz von 0,5µg LHRH und 0,5mg ACS erfolgt im Vergleich zum Leerwert eine Ausschüttung von 76% = 2285ng/ml FSH. Bei Zusatz von 0,5µg LHRH und 1mg ACS liegt der Wert am ersten Tag dagegen um 665ng/ml höher als bei der Kontrollgruppe. Dies entspricht einer Ausschüttung von 122%. Dieser Wert ist signifikant erhöht gegen die Kontrollen und innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen. Ab dem zweiten Tag liegen die Meßergebnisse aller Konzentrationen unter denen der Kontrollen mit Ausnahme des fünften Tages. Hier erfolgt bei der Gruppe mit Zusatz von 0,5µg LHRH und 0,1mg ACS eine Ausschüttung von 113% und bei der Gruppe mit Zusatz von 0,5µg LHRH und 0,5mg ACS von 122%. Diese Werte

sind jedoch nicht signifikant.
Vergleicht man die Gesamtsummen der einzelnen Konzentrationen über fünf Tage, so liegen alle Werte unter denen der Kontrollen. Die höchste Ausschüttung mit 95% erfolgt bei der Gruppe mit 1mg ACS-Zusatz.
Es scheint, daß bei niedriger Dosierung der ACS eine Hemmung der FSH-Ausschüttung vorliegt. Bei höherer Dosierung scheint diese Hemmung wieder aufgehoben zu sein. Dies wird auch in Abbildung 35 deutlich.
Vergleicht man die Ergebnisse mit denen von Versuch 3, so scheint die Acetylsalicylsäure das Releasinghormon zu hemmen. Dort hatte ein alleiniger Zusatz von 0,5µg LHRH unter gleichen Versuchsbedingungen eine Mehrausschüttung bewirkt.

Tabelle 10: FSH-Ausschüttung in ng/ml

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
Leerwert	3328	1756	1301	440	485
	3850	943	982	717	61
	2523	2501	1117	297	119
	2362	1024	299	394	412
	2977	1963	612	234	271
$\bar{x}$	3008	1637	1003	416	270
s	± 605=	± 657=	± 292=	± 186=	± 182=
	20%	39%	29%	45%	67%
$\Sigma\bar{x}$	6334 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	48	26	16	7	4
0,5µg LHRH	3252	1236	1604	845	374
+0,1mg ACS	1988	1057	360	484	374
	1836	480	679	281	317
	1971	876	376	235	185
	3052	1860	1040	237	280
$\bar{x}$	2420	1102	811	416	306
s	± 675=	± 508=	± 522=	± 261=	± 79=
	28%	46%	64%	63%	26%
$\Sigma\bar{x}$	5055 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	48	22	16	8	6
0,5µg LHRH	3299	2583	412	523	495
+0,5mg ACS	1573	2002	474	459	486
	1880	1467	372	183	336
	1991	1021	554	366	211
	2682	992	680	275	122
$\bar{x}$	2285	1613	498	361	330
s	± 697=	± 680=	± 123=	± 137=	± 165=
	31%	42%	25%	38%	50%
$\Sigma\bar{x}$	5087 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	45	32	10	7	7
0,5µg LHRH	3744	1476	301	346	233
+1,0mg ACS	3512	1572	680	538	153
	2779	1421	295	167	130
	3955	1087	559	204	196
	4377	1338	498	345	291
$\bar{x}$	3673	1379	467	320	201
s	± 592=	± 184=	± 167=	± 146=	± 64=
	16%	13%	36%	46%	32%
$\Sigma\bar{x}$	6040 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	61	23	8	5	3

Prozentuale Zu- bzw. Abnahme der FSH-Ausschüttung, wenn Leerwert = 100% gesetzt wird:

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
Leerwert	100%	100%	100%	100%	100%
0,5µg LHRH +0,1mg ACS	81%	67%	81%	100%	113%
0,5µg LHRH +0,5mg ACS	76%	99%	50%	87%	122%
0,5µg LHRH +1,0mg ACS	122%	84%	47%	77%	74%

Prozentuale Aufteilung der $\Sigma\bar{x}$:

Leerwert	=	100%
0,5µg LHRH +0,1mg ACS	=	80%
0,5µg LHRH +0,5mg ACS	=	80%
0,5µg LHRH +1,0mg ACS	=	95%

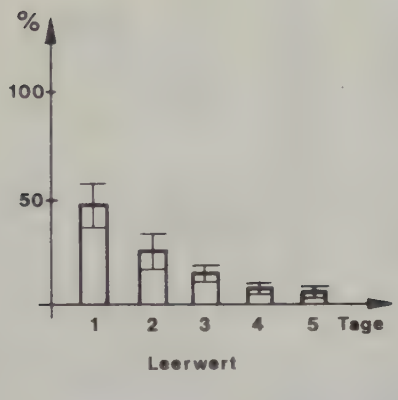
Signifikanz gegen Kontrolle:

	0,1mg ACS	0,5mg ACS	1,0mg ACS
1.Tag	-	+	+
2.Tag	-	-	-
3.Tag	-	+	+
4.Tag	-	-	-
5.Tag	-	-	-

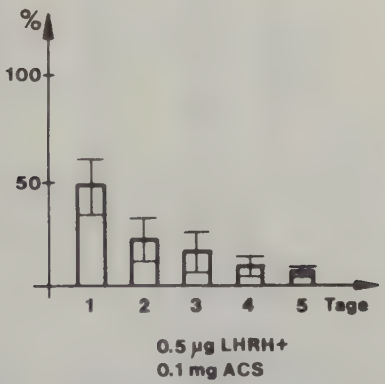
Signifikanz innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen:

	0,1 zu 0,5mg	0,1 zu 1,0mg	0,5 zu 1,0mg
1.Tag	-	++	++
2.Tag	-	-	-
3.Tag	-	-	-
4.Tag	-	-	-
5.Tag	-	+	-

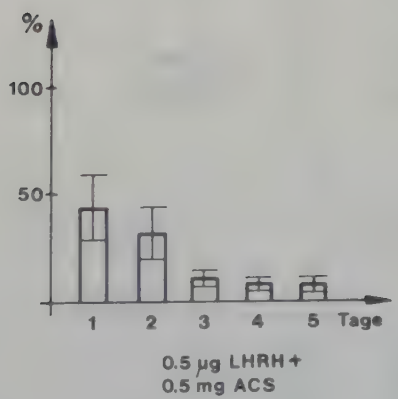
Abb.29:
Versuch 6: FSH-Ausschüttung in % bei Gesamtsumme $\bar{x}$ = 100%



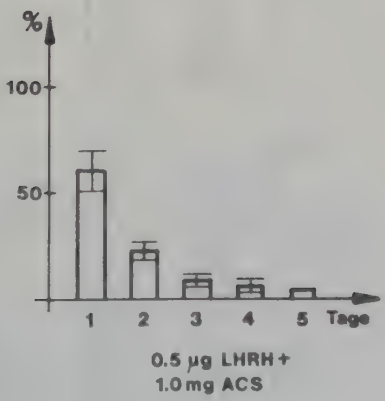
Leerwert



0.5 µg LHRH+
0.1 mg ACS



0.5 µg LHRH+
0.5 mg ACS



0.5 µg LHRH+
1.0 mg ACS

Versuch 6: FSH-Ausschüttung in % bei Leerwert = 100%

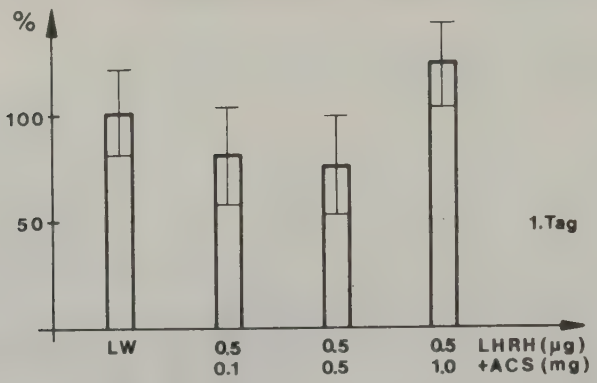


Abb.30

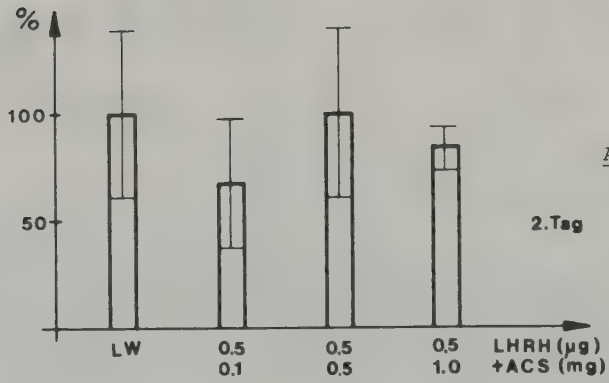


Abb.31

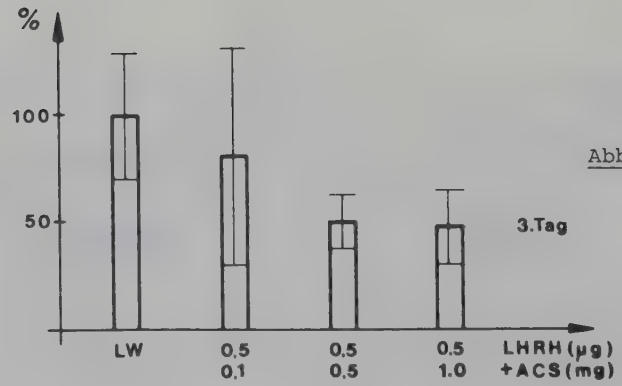


Abb.32

Fortsetzung Versuch 6: FSH-Ausschüttung in % bei Leerwert = 100%

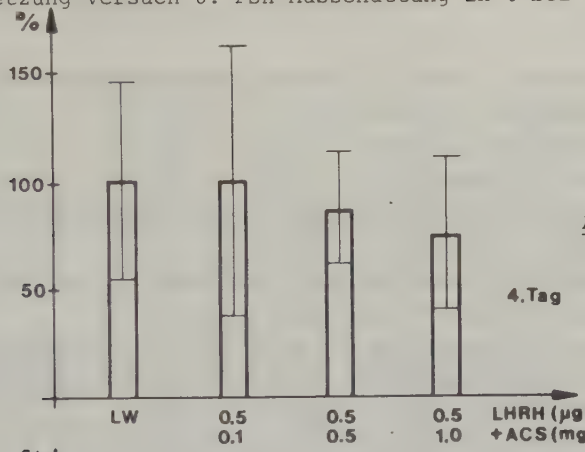


Abb.33

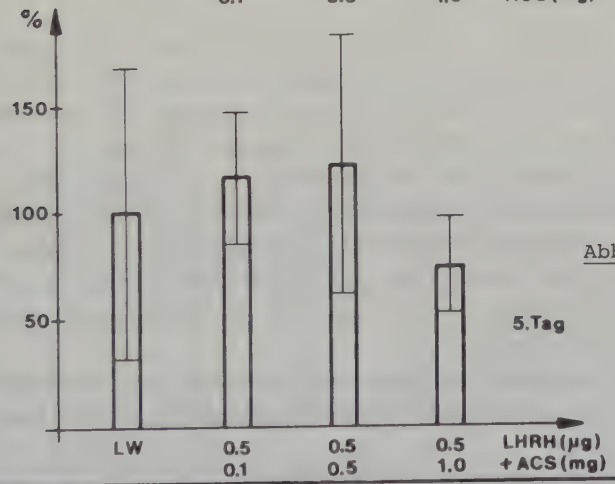


Abb.34

FSH-Ausschüttung in % der Gesamtsummen $\bar{x}$, wenn Leerwert = 100%:

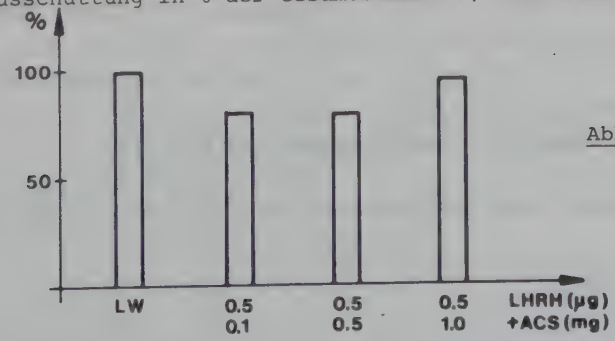


Abb.35

Versuch 7:

In diesem Versuch wurde die Wirkung des Prostaglandins $F_{2\alpha}$ auf den FSH-Release untersucht.
Es wurde unterteilt in eine

- — Kontrollgruppe
- — Gruppe mit Releasinghormon, in der Dosierung 0,5µg LHRH
- — Gruppe mit Zusatz von 0,5µg LHRH sowie 0,5mg $PGF_{2\alpha}$
- — Gruppe mit Zusatz von 0,5mg $PGF_{2\alpha}$

Täglich fand ein Medienwechsel statt ohne erneuten Zusatz von LHRH und $PGF_{2\alpha}$ analog den Versuchen 3 und 6. Der Versuchsabbruch erfolgte nach 5 Tagen.

Bei der Gruppe mit Zusatz von 0,5µg LHRH und 0,5mg $PGF_{2\alpha}$ lagen die Meßergebnisse alle über denen der Kontrollgruppe. Es ergab sich am 1.Tag eine Ausschüttung von 4235ng/ml FSH. Dies entspricht 124% der Kontrollgruppe (3426ng/ml). Die Werte sind signifikant. Bei der Gruppe mit alleinigem Zusatz von 0,5mg $PGF_{2\alpha}$ ergab sich eine signifikante Ausschüttung mit einem Peak von 4091ng/ml FSH am 1.Tag (entspricht 119%). Bei der Gruppe, der nur 0,5µg LHRH zugesetzt wurden, lagen die Meßergebnisse bis auf den 4. und 5. Tag unter denen der Kontrollgruppe.
Gegen Versuchsende ergaben sich bei allen drei Versuchsgruppen hoch signifikante Ausschüttungen gegen die Kontrolle.
Vergleicht man die Gesamtsummen der einzelnen Versuchsgruppen miteinander, so schütten die Gruppe mit alleinigem Zusatz von 0,5µg LHRH und die Gruppe mit Zusatz von 0,5µg LHRH und 0,5mg $PGF_{2\alpha}$ etwa gleich viel aus. Im Vergleich zur Kontrollgruppe 133%.
Das $PGF_{2\alpha}$ scheint einen FSH-Release zu bewirken.

Tabelle 11: FSH-Ausschüttung in ng/ml

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
Leerwert	2891	1030	889	594	129
	3917	2221	1337	845	254
	3623	1637	1492	624	131
	3386	1779	1573	585	207
	3313	1674	894	665	410
$\bar{x}$	3426	1668	1237	663	226
s	± 381= 11%	± 426= 26%	± 327= 26%	± 107= 16%	± 116= 51%
$\Sigma\bar{x}$	7220 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	48	23	17	9	3
0,5µg LHRH	3603	1156	547	699	1110
	2007	665	350	462	605
	2508	650	646	902	912
	3762	1262	763	618	481
	3302	1339	540	748	739
$\bar{x}$	3036	1014	569	686	769
s	± 752= 24%	± 332= 33%	± 152= 27%	± 162= 24%	± 249= 32%
$\Sigma\bar{x}$	6074 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	50	17	9	11	13
0,5mg $PGF_{2\alpha}$	4416	2723	1826	797	550
	3248	1559	1038	519	528
	4722	2613	1407	982	588
	4322	3251	1505	1147	848
	3748	2889	1318	988	597
$\bar{x}$	4091	2607	1419	887	662
s	± 589= 14%	± 634= 24%	± 287= 20%	± 240= 27%	± 129= 21%
$\Sigma\bar{x}$	9626 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	43	27	15	9	7
0,5µg LHRH +0,5mg $PGF_{2\alpha}$	4179	1895	1183	544	443
	5001	2791	1399	1168	1044
	3130	1584	1632	564	665
	4629	2679	1822	766	1411
$\bar{x}$	4235	2237	1509	761	891
s	± 810= 19%	± 590= 26%	± 278= 18%	± 290= 38%	± 427= 48%
$\Sigma\bar{x}$	9633 = 100%				
$\bar{x}$ in % von $\Sigma\bar{x}$	44	23	16	8	9

Prozentuale Zu- bzw. Abnahme der FSH-Ausschüttung, wenn Leerwert = 100% gesetzt wird:

	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
Leerwert	100%	100%	100%	100%	100%
0,5µg LHRH	89%	61%	46%	104%	340%
0,5mg $PGF_{2\alpha}$	119%	156%	115%	134%	275%
0,5µg LHRH +0,5mg $PGF_{2\alpha}$	124%	134%	122%	115%	394%

Prozentuale Aufteilung der $\Sigma\bar{x}$:

Leerwert	= 100%
0,5µg LHRH	= 84%
0,5mg $PGF_{2\alpha}$	= 133%
0,5µg LHRH +0,5mg $PGF_{2\alpha}$	= 133%

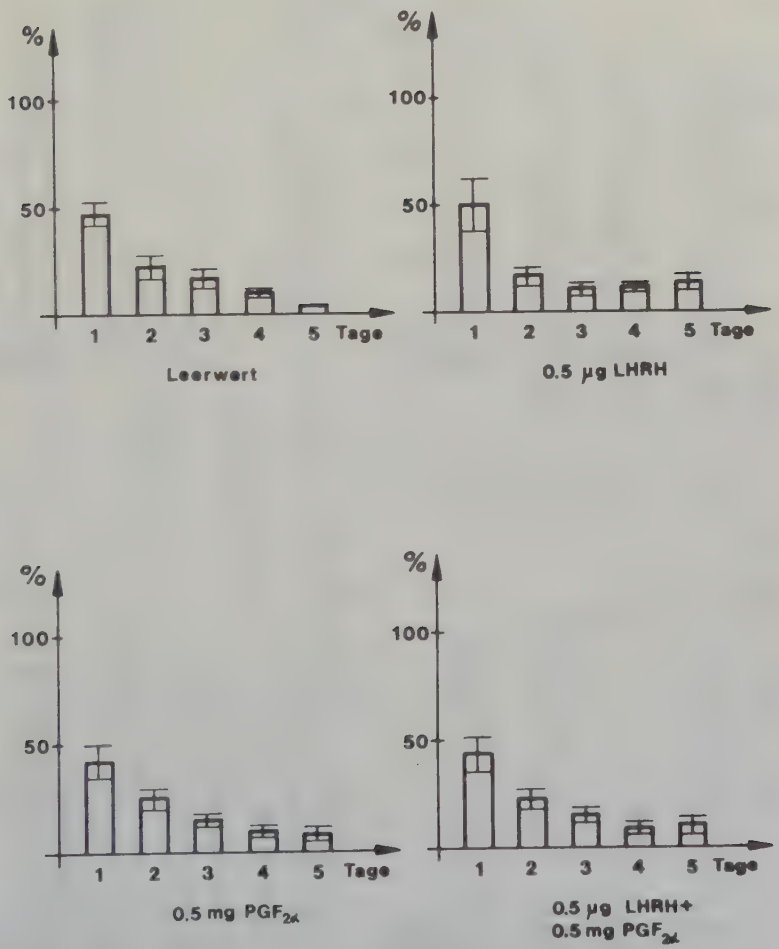
Signifikanz gegen Kontrolle:

	0,5µg LHRH	0,5mg $PGF_{2\alpha}$	0,5µg LHRH +0,5mg $PGF_{2\alpha}$
1.Tag	-	+	+
2.Tag	+	+	+
3.Tag	++	-	-
4.Tag	-	+	-
5.Tag	++	++	++

Signifikanz innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen:

	LHRH zu $PGF_{2\alpha}$	LHRH zu LHRH +$PGF_{2\alpha}$	$PGF_{2\alpha}$ zu LHRH +$PGF_{2\alpha}$
1.Tag	+	+	-
2.Tag	++	++	-
3.Tag	++	++	-
4.Tag	+	-	-
5.Tag	-	-	-

Abb.36:
Versuch 7: FSH-Ausschüttung in % bei Gesamtsumme $\bar{x}$ = 100%



Versuch 7: FSH-Ausschüttung in % bei Leerwert = 100%

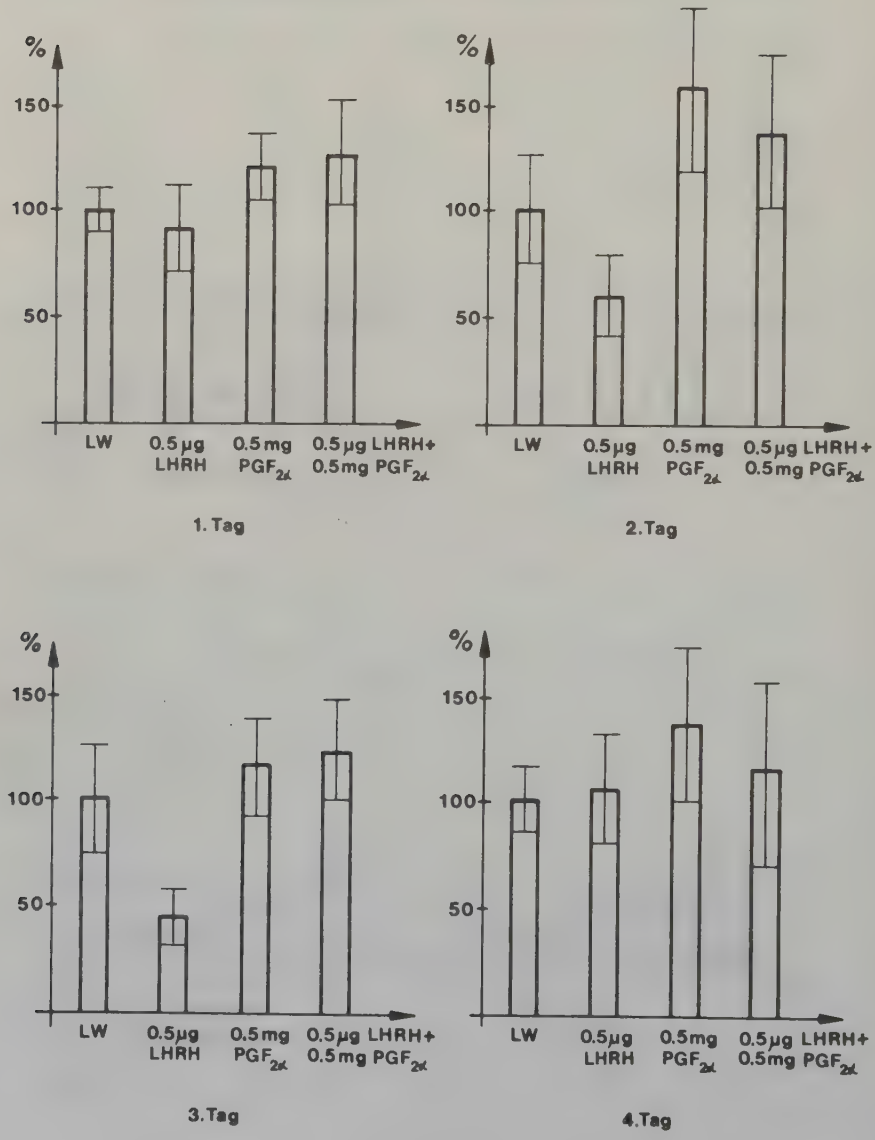
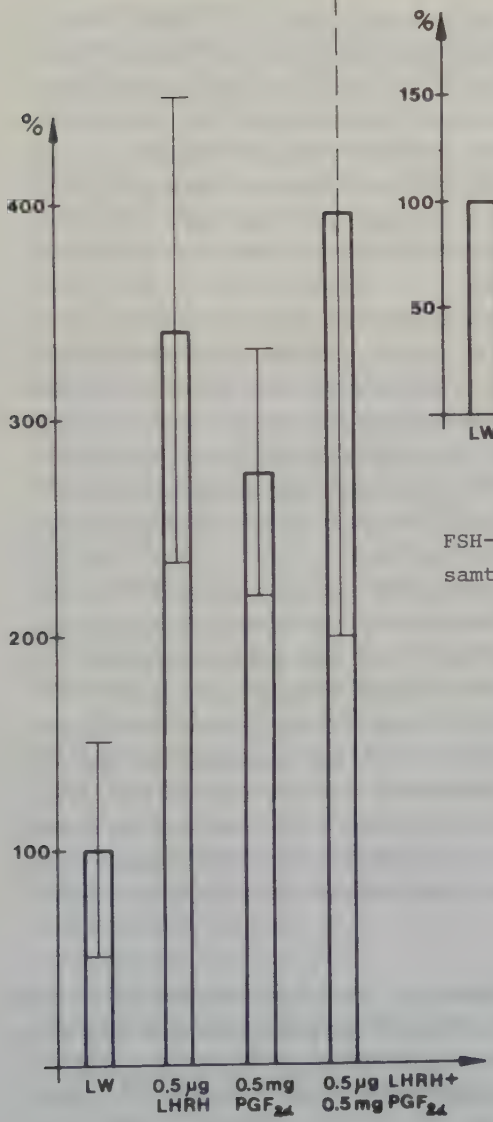
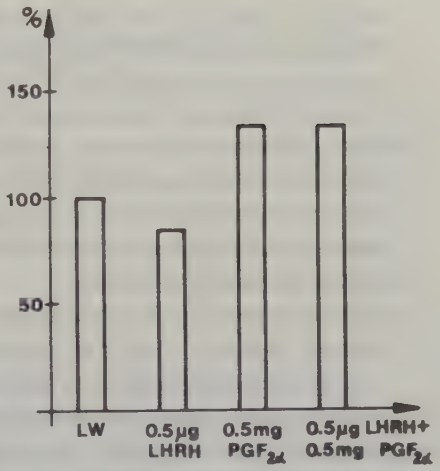


Abb.37

Vers.7: FSH-Ausschüttung in %
bei Leerwert = 100%



zu Abb.37



FSH-Ausschüttung in % der Gesamtsummen $\bar{x}$, wenn Leerwert = 100%:

Abb.38

5. D I S K U S S I O N

Eine Releasinghormon-Aktivität wurde in früheren Versuchen zunächst mit Hypothalamusextrakten in verschiedenen Spezies nachgewiesen (37, 52, 53). Weitere Untersuchungen führten dann einige Jahre später zur Isolierung eines Releasinghormons. So deckte die Arbeitsgruppe von SCHALLY durch Hydrolyse und enzymatische Aufarbeitung den Peptidcharakter des Releasinghormons auf. Die genaue Synthese gelang dann der Gruppe unter GEIGER von den Farbwerken HOECHST (16).
Das Problem, das sich aber in diesen Versuchen immer wieder stellte, war die Frage, ob LHRH und FSHRH identisch sind oder nicht. 1965 beschrieben SCHALLY, BOWERS et al., daß ihnen durch Fraktionierung von Hypothalamusextrakt eine Trennung von LHRH und FSHRH gelungen wäre (34). Sie schrieben die FSHRH-Wirkung einem kürzeren Peptid, das ungefähr wie Vasopressin ein Molekulargewicht von 1400-2000 haben sollte, zu.
Zu derselben Ansicht gelangten damals auch DHARIWAL und McCANN (9). CYRIL Y. BOWERS vertrat aufgrund seiner Ergebnisse die Meinung, daß FSHRH und LHRH sich sogar unter gewissen Umständen hemmen könnten (4). Später stimmte die Arbeitsgruppe von SCHALLY jedoch eher der Hypothese von WHITE 1970 (67) zu, der postulierte, daß nur ein identisches Peptid für den Release sowohl von LH als auch von FSH verantwortlich ist. Ihre damalige Auffassung erklärten sie damit, bei der früheren elektrophoretischen Auftrennung nur Polyamine vom LHRH abgetrennt zu haben (58a).

Es war nun von Interesse, wie sich der synthetische LHRH (10-6309, Fa. LA ROCHE, Basel) in verschiedenen Dosierungen und unter zeitlich unterschiedlichen Versuchsbedingungen auf den FSH-Release auswirkte.

Folgende Fragen sollten dabei geklärt werden:

a) Findet eine Hemmung oder eine Stimulation des FSH-Release statt?
b) Gibt es Rückschlüsse auf eine Neusynthese von FSH?
c) Nehmen Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$ einen Einfluß auf die FSH-Ausschüttung?

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen eine Hemmung der FSH-Ausschüttung bei ununterbrochenem Versuchsablauf über fünf Tage als auch bei täglichem Zusatz von LHRH. Die Ausschüttung von FSH war nach fünf Tagen bei allen drei Dosen von Releasinghormon (0,5, 1,5 und 2,5µg/ml) signifikant erniedrigt. Die schwächste Hemmung erfolgte bei der Konzentration 0,5µg/ml LHRH.
Tägliche Zugabe von Releasinghormon ergab bei allen Versuchsgruppen einen Peak am ersten Tag mit kontinuierlichem Abfall der Ausschüttungswerte bis zum fünften Tag. Der Peak am ersten Tag dürfte zum Teil durch die mechanische Zerstückelung der Hypophysen bei Versuchsansatz und der dadurch bedingten Entleerung der Speicher ins Medium bedingt sein.
Im Vergleich mit der Kontrolle war der Release bei den einzelnen Konzentrationen von LHRH hoch signifikant erniedrigt. Ein Vergleich von 1,5µg zu 2,5µg/ml läßt keine eindeutige Steigerung der Hemmung bei höheren Dosierungen erkennen, was aus Tabelle 3 zu ersehen ist. Bei täglicher Verdünnung des Releasinghormons (einmaliger Zusatz des LHRH bei Versuchsansatz)ergab sich eine Mehrausschüttung von FSH bei allen drei verwandten LHRH-Dosierungen bis zum vierten Tag. Die höchste Ausschüttung war bei der Gruppe mit 2,5µg LHRH zu verzeichnen. Dieser Release war signifikant.
Ein Vergleich zu den unter denselben Versuchsbedingungen ermittelten LH-Werten:
Im niedrigen Dosenbereich ergab sich bei ansteigender Dosierung eine höhere Ausschüttung. Nur bei hohen Konzentrationen (2,5µg) trat eine Hemmung auf (51).
Unter ähnlichen Versuchsvoraussetzungen erhielt die Gruppe von SCHALLY folgende Resultate: Der FSH-Release steigerte

sich bei ansteigender Konzentration von LHRH, während der FSH-Release bei einer bestimmten Grenzdosis ein Plateau erreichte und durch höhere Konzentrationen nicht mehr zu steigern war (47).
HELLER konnte 1972 ebenfalls in Versuchen mit hochgereinigten menschlichen Hypothalamusextrakten an ovarektomierten, östrogen-progesteron-blockierten Ratten diese Dosis-Wirkungs-Beziehung nachweisen. Bei Verwendung einer hochaktiven Hypothalamusfraktion konnte eine optimale Dosis bestimmt werden. Bei Erhöhung dieser Dosis blieb die FSH-Freisetzung über einen größeren Dosisbereich konstant hoch. Daraus wurde geschlossen, daß die Hypophyse mit der optimalen Dosis maximal stimuliert werden kann, wahrscheinlich durch Depolarisation der Zellmembran (28).
Seit der Erforschung der Wirkungsweise von LHRH, trat immer wieder die Frage auf, ob LHRH nur einen FSH-Release oder auch eine Neusynthese von FSH bewirkt.
Einige Autoren unternahmen Versuche mit Puromycin und Actinomycin, um eine eventuelle Neusynthese zu hemmen. JUTISZ und PALOMA DE LA LLOSA fanden einen Rückgang der FSH-Ausschüttung nach Zusatz von Puromycin (32). WATANABE, DHARIWAL und McCANN gelangten 1968 zu demselben Ergebnis (65). Sie schlossen daraus, daß LHRH entweder eine Neusynthese bewirkt oder aber ein Enzymsystem aktiviert, das den Release auslöst.
In dieser Arbeit konnte bei einer über 20 Tage dauernden täglichen Stimulation mit LHRH in den bekannten Konzentrationen keine Neusynthese nachgewiesen werden. Die FSH-Ausschüttung fiel bei allen Versuchsgruppen vom ersten Tag an auf kaum mehr meßbare Werte bis zum Versuchsabbruch ab. Bei allen Konzentrationen ergaben sich während des Versuchsablaufs kleinere Peaks. Deren Absolutwerte fielen im Vergleich zu denen des Peaks am ersten Tag aber gering aus. Ab dem sechsten Tag schienen die Hypophysen erschöpft zu sein. Sie schütteten nur noch geringe FSH-Mengen aus. Ein Vergleich mit der Kontrollgruppe ergab bei allen drei Dosierungen eine Hemmung des FSH-Release. Die Meßergebnisse lagen alle unter

denen der Kontrolle. Die geringste Ausschüttung war bei der Gruppe mit 0,5µg LHRH zu verzeichnen. Die Gruppen mit 1,5 und 2,5µg LHRH-Zusatz schütteten etwa gleich viel an FSH aus.
STEINBERGER vermutete unter ähnlichen Versuchsbedingungen eine Neusynthese, nachdem er durch Zugabe von Hypothalamusextrakt am 21.Tag zu seinen Kulturen eine Ausschüttung von FSH hervorrufen konnte. Einen weiteren Zusatz von Hypothalamusextrakt an den folgenden Tagen erbrachte allerdings keine erneute Stimulation. Er führte dies auf den cytotoxischen Effekt oder auf eine Fibroblastenüberwucherung zurück (59).

Verfolgt man die FSH-Ausschüttung im Verlauf einer Kinetik über 36 Stunden, so wurde bei allen drei Versuchsgruppen innerhalb der ersten vier Stunden am meisten FSH ausgeschüttet. Bei der Gruppe mit 0,5µg LHRH-Zusatz lag das Maximum der Ausschüttung nach zwei Stunden. Ein Vergleich der Gesamtausschüttung in 36 Stunden mit der Kontrolle ergibt eine Zunahme des FSH-Releases um 15%. Im Gegensatz hierzu scheint bei der Gruppe mit Zusatz von 1,5µg LHRH eine Hemmung der FSH-Ausschüttung vorzuliegen. Es erfolgt eine Abnahme der Gesamtausschüttung um 28%. Bei dieser Gruppe erfolgt der größte Release in der ersten Stunde. Bei Zusatz von 2,5µg LHRH scheint, widersprüchlich zu den vorangehenden Versuchen, im Vergleich zur Kontrolle eine Mehrausschüttung an FSH vorzuliegen. Die Meßergebnisse liegen alle unter denen der Kontrolle. Aufgrund der großen Streubreite der Werte kann jedoch keine eindeutige Aussage gemacht werden. Sie zeigen nur vereinzelt zur Kontrolle eine Signifikanz. Hier bei dieser Konzentration war das Maximum des Releases nach 30 Minuten. Dies würde den Ergebnissen von HELLER (28) entsprechen. Er erhielt bei Versuchen mit hochgereinigtem menschlichem Hypothalamusextrakt an östrogen-progesteron-blockierten Ratten ebenfalls ein Optimum nach 30 Minuten. Im Gegensatz hierzu erzielte man bei der unter denselben Versuchsbedingungen durchgeführten LH-Kinetik bei allen Konzentrationen einen Release. Die höchsten signifikanten

Ausschüttungen erbrachte die Gruppe mit 1,5µg LHRH-Zusatz, während bei 2,5µg durch die zu hohe Konzentration von LHRH eine Hemmung der Ausschüttung vorlag (51).

Eine mögliche Beeinflussung der FSH-Ausschüttung durch andere Pharmaka wurde anhand der Versuche mit Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$ untersucht.
Wie bereits von mehreren Autoren festgestellt wurde, üben die Prostaglandine einen Einfluß auf die Hypophysenvorderlappenhormone aus. HARMS, OJEDA und McCANN bewiesen 1974 in ihren in vivo Versuchen eine Gonadotropinausschüttung in Anwesenheit von Prostaglandin E_2 und Prostaglandin E_1 (23); ein Release erfolgte ebenfalls durch direkte Injektion dieser Prostaglandine in den 3. Ventrikel und in die Hypophyse selbst (22, 23). In den Versuchen, die zur Klärung des genauen Angriffspunktes durchgeführt wurden, stellten DEMERS, MARTINO et al. ein Zusammenwirken mit dem zyklischen AMP fest. Bei Zusatz von Prostaglandin E_1 und $F_{2\alpha}$ kam es zu einer Abnahme des Glycogengehaltes der Hypophysen und zu einer Zunahme der Glycogenphosphorylase und des zyklischen AMPs (8). Sie konnten in einem anderen Versuch, bei dem nur LHRH zugesetzt wurde, ebenfalls eine Abnahme des Glycogengehaltes der Hypophysenzellen und eine Zunahme der Phosphorylase verzeichnen. Sie schlossen daraus, daß das Glycogen als Energiequelle beim Release dient.
Durch Zusatz eines Anti-LHRH-Serums vermochten CHOBSIENG, NAOR et al. 1975 die Wirkung der Prostaglandine auf die Gonadotropinausschüttung aufzuheben (7). OJEDA, HARMS und McCANN versuchten in späteren Untersuchungen mit Inhibitoren der Prostaglandinsynthese, vor allem mit Indomethazin, die Gonadotropinausschüttung zu blockieren. Das gelang ihnen nur in Bezug auf den LH-Release. Die FSH-Ausschüttung nahm dagegen zu (41).
In der vorliegenden Arbeit wurde das Prostaglandin $F_{2\alpha}$ untersucht, bei dem HARMS, OJEDA und McCANN in ihren in vivo Versuchen im Gegensatz zu Prostaglandin E_1 keine signifikante Änderung der FSH-Ausschüttung erhielten (22). Es

sollte festgestellt werden, ob Prostaglandin $F_{2\alpha}$ allein einen FSH-Release bewirkt, und ob derselbe durch zusätzliche Zugabe von LHRH beeinflußt wird.
Bei alleinigem Zusatz von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ konnte während des gesamten Versuchsablaufs eine signifikante Steigerung der FSH-Ausschüttung verzeichnet werden. Bei gemeinsamem Zusatz von LHRH und Prostaglandin $F_{2\alpha}$ fand ebenfalls ein vermehrter Release statt. Am ersten Tag schüttete die Gruppe mit $PGF_{2\alpha}$ und LHRH sogar etwas mehr FSH aus. Diese Tendenz läßt sich aber bis zum Versuchsabbruch am fünften Tag nicht verfolgen. Ein Vergleich der Gesamtsummen zeigt, daß beide Gruppen etwa gleich viel FSH ausschütten. Bei alleinigem Zusatz von LHRH fand unter den gleichen Versuchsbedingungen im Vergleich zur Kontrolle eine Hemmung der FSH-Ausschüttung statt.
Aus den erhaltenen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß Prostaglandin $F_{2\alpha}$ allein einen FSH-Release bewirkt. Durch gleichzeitige Zugabe von LHRH kann keine Beeinflussung der FSH-Ausschüttung bewirkt werden. Es scheint, daß die Hemmung des LHRH durch das $PGF_{2\alpha}$ aufgehoben wurde. Zur genauen Klärung bedarf es aber noch weiterer Versuche.

Es war nun von Interesse, welchen Einfluß Acetylsalicylsäure als wichtiger Prostaglandin-Inhibitor auf die FSH-Ausschüttung hatte (22).
Bei Zusatz von 0,5µg LHRH und ACS in niedrigen Konzentrationen (0,1 und 0,5mg ACS) liegen die Werte unter denen der Kontrollen. Es bestand allerdings keine Signifikanz. Bei höherer Dosierung der Acetylsalicylsäure (1mg) ergab sich ein signifikanter FSH-Release am ersten Tag, der sich aber im weiteren Versuchsablauf nicht bestätigte. Ein Vergleich der Gesamtsummen über fünf Tage ergab bei allen drei Konzentrationen im Vergleich zur Kontrolle eine geringere FSH-Ausschüttung. Am meisten schüttete die Gruppe mit Zusatz von 1mg ACS aus.
Ein Vergleich hierzu mit unter denselben Versuchsbedingungen erhaltenen LH-Ausschüttungen ergab ebenfalls eine Hemmung.

(51).
Durch die erhaltenen Meßergebnisse kann geschlossen werden, daß die Acetylsalicylsäure, als wichtiger Prostaglandininhibitor, die Gonadotropinausschüttung hemmt. Es besteht vermutlich eine Wechselbeziehung zwischen Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$. Sie scheinen sich in ihrer Wirkung aufzuheben. Zur genaueren Klärung bedarf es aber noch weiterer Versuche, evtl. durch gemeinsame Zugabe von Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$.
Bisher wurden von anderen Autoren kaum Versuche mit Rattenhypophysenkulturen und Acetylsalicylsäure durchgeführt. Es bestehen somit keine Vergleichsmöglichkeiten.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In Anlehnung an Untersuchungen von SCHALLY (47) wurde in Versuchen an sterilen Rattenhypophysenkulturen die Wirkungsweise des synthetischen LHRH unter verschiedenen Bedingungen in Bezug auf Release und Neusynthese von FSH geprüft. Die Messung erfolgte mit Radioimmunoassay.
Es zeigte sich, daß bei täglicher Stimulation mit LHRH bei einer Dosis von 0,5, 1,5 und 2,5µg LHRH die FSH-Ausschüttung gehemmt wurde. Dagegen fand bei täglicher Verdünnung des Releasinghormons bei allen drei Konzentrationen im Vergleich zur Kontrolle eine Vermehrung des FSH-Release statt.
Bei einer Stimulation mit LHRH über 20 Tage konnte keine Neusynthese nachgewiesen werden. Die höchste Ausschüttung erfolgte am ersten Tag.
Zur genaueren Überprüfung wurde eine Kinetik über 36 Stunden vorgenommen. Bei allen drei Dosierungen des LHRH (0,5, 1,5 und 2,5µg) erfolgte der höchste Release innerhalb der ersten vier Stunden. Bei einem Vergleich der Gesamtausschüttung über 36 Stunden, ergab sich bei der Gruppe mit 0,5µg LHRH im Vergleich zur Kontrolle eine Zunahme des Releases. Bei Zusatz von 1,5µg LHRH erfolgte eine Hemmung der FSH- Ausschüttung. Bei Steigerung der LHRH-Konzentration (2,5µg) erfolgte eine erhebliche Zunahme der FSH-Ausschüttung, die sogar höher lag als bei der Gruppe mit 0,5µg LHRH. Es bestand allerdings keine Signifikanz bei den erhaltenen Werten.
Bei Zusatz von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ in der Dosierung von 0,5mg erfolgte im Vergleich zur Kontrolle eine Zunahme der FSH-Ausschüttung. Bei gemeinsamem Zusatz von $PGF_{2\alpha}$ und LHRH unter denselben Versuchsbedingungen ergab sich keine Änderung der Meßergebnisse. Der genaue Angriffspunkt der Prostaglandine scheint vor allem in Bezug auf den FSH-Release noch nicht genau geklärt zu sein, wie auch Untersuchungen anderer Autoren zeigten.

Bei einem weiteren Versuch mit Zusatz von Acetylsalicylsäure, die als Inhibitor der Prostaglandinsynthese wirkt, konnte eine Hemmung der FSH-Ausschüttung nachgewiesen werden. Es besteht vermutlich eine Wechselbeziehung zwischen Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$. Die beiden Substanzen scheinen sich in ihrer Wirkung aufzuheben. Hierzu bedarf es aber noch weiterer Untersuchungen.
Im Ganzen gesehen stehen die Versuche mit LHRH in engem Zusammenhang mit klinischen Aspekten. Durch genauere Erforschungen der Wirkungen und Nebenwirkungen dieser Substanz bietet sich eine neue Möglichkeit der Ovulationsauslösung, bzw. der Kontrazeption an.

7. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1 BABA, Y., MATSUO, H., SCHALLY, A.V.: Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. II. confirmation of the proposed structure by convential sequential analysis.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 44: 459-63 (1971)

2 BLOBEL, R. und H.D. SCHLUMBERGER: Über die zentrale Steuerung der weiblichen Gonadenfunktion. Übersicht und eigene Untersuchungen.
Med. Welt 51: 3132-3141 (1967)

3 BOGDANOVE, E.M., HALMI, N.S.: Effects of hypothalamic lessions on subsequent propylthiouracil treatment of pituitary structure and function in the rat.
Endocrinology 53: 274-92 (1953)

4 BOWERS, C.Y.: Biological evidence that separate hypothalamic hormones release the follicle stimulating and luteinizing hormones.
Biochemical and Biophysical Research Communications Vol. 50, No. 1: 20-26 (1973)

5 CAMPBELL, H.J., FEUER, G., GARCIA, J., HARRIS, G.W.: The infusion of brain extracts into the anterior pituitary gland and the secretion of gonadotrophic hormone.
J. Physiol. (Lond.) 157, 30-31 (1961)

6 CAMPBELL, H.J., FEUER, G., HARRIS, G.W.: The effect of intrapituitary infusion of median eminence and other brain extracts on anterior pituitary gonadotrophic secretion.
J. Physiol. (Lond.) 170: 474-486 (1964)

7 CHOBSIENG, P., NAOR, Z., KOCH, Y., ZOR, U. and LINDNER, H.R.: Stimulatory effect of the prostaglandin E_2 on LH-release in the rat: Evidence for hypothalamic site of action.
Neuroendocrinology 17 (1): 12-17 (1975)

8 DEMERS, L.M., MAKINO, T., and GREEP, R.O.: Factors influencing pituitary glycogen metabolism and gonadotropic hormone release. II.A role of prostaglandins.
Fertility and Sterility 25/10: 878-884 (1974)

9 DHARIWAL, A.P.S., NALLAR, R., BATT, M., McCANN, S.M.: Separation of follicle-stimulating hormone-releasing factor from luteinizing hormone-releasing factor.
Endocrinology 76: 290-4 (1964)

10 DOUGLAS, W.W. and POISNER, A.M.: Stimulus-secretion coupling in a neurosecretory organ: The role of calcium in the release of vasopressin from the neurohypophysis. J. Physiol. (Lond.) 172: 1-18 (1964)

11 EAHINS, K.E., FREDHOLM, Hans Fex Bo, HIGBERG, Bertil and VEIGE, Sten: On the prostaglandin inhibitory action of polyphloretin phosphate.
Advances in the Biosciences 9; International Conference on Prostaglandins 135-138 (1972)

12 ENDRÖCZI, E., HILLIARD, J.: Luteinizing hormone releasing activity in different parts of rabbit and dog brain.
Endocrinology 77: 667-673 (1965)

13 FAWCETT, C.P., REED, M., CHARLTON, H.M., HARRIS, G.W.: The purification of luteinizing hormone releasing factor with some observations on its properties.
Biochem. J.: 106, 229-236 (1968)

14 FLERKO, B.: Zur hypothalamischen Steuerung der gonadotropen Funktion der Hypophyse.
Acta morph. Acad. Sci. hung 4, 475 892 (1954)

15 FLERKO, B.: The central nervous system and the secretion and release of LH and FSH.
On Advances in Neuroendocrinology Nalbandov, A., Ed. Univ. of Illinois Press, Urbana, III., p. 211 (1963)

16 GEIGER, R., KÖNIG, W., WISSMANN, H., GEISER, U. and ENZMANN, F.; FARBWERKE HOECHST: Synthesis and characterisation of a decapeptide having LH-RH/FSH-RH activity.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 45: 767-73 (1971)

17 GREER, M.A.: Evidence of hypothalamic control of the pituitary release of thyrotropin.
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 77: 603-8 (1951)

18 GUILLEMIN, R., ROSENBERG, B.: Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: A study with combined tissue cultures.
Endocrinology 57: 599-607 (1955)

19 GUILLEMIN, R., YAMAZAKI, E., JUTISZ, M., SAKIZ, E.: Présence dans un extrait de tissus hypothalamiques d'une substance stimulant la sécretion de l'hormone hypophysaire thyreotrope (TSH). Première purification par filtration sur le Sephadex.
C R Acad Sci (Paris) 255: 1018-20 (1962)

20 HALÁSZ, B., PUPP, L., UHLARIK, S.: Hypophysiotrophic area in the hypothalamus.
J. Endocr. 25, 147-54 (1962)

21 HANGARTER, W.: Die Salicylsäure und ihre Abkömmlinge. F.K. Schattauer Verlag Stuttgart- New York

22 HARMS, P.G., OJEDA, S.R., McCANN, S.M.: Prostaglandin involvement in hypothalamic control of gonadotropin and prolactin release.
Science 181: 760-61 (1973)

23 HARMS, P.G., OJEDA, S.R., McCANN, S.M.: Prostaglandin induced release of pituitary gonadotropins: central nervous system and pituitary sites of action.
Endocrinology 94/5: 1459-1464 (1974)

24 HARRIS, G.W.: The induction of ovulation in the rabbit, by electrical stimulation of the hypothalamo-hypophysial mechanism.
Proc. Roy. Soc. B. 122: 374-94 (1937)

25 HARRIS, G.W.: Electrical stimulation of the hypothalamus and the mechanism of neural control of the adenohypophysis.
J. Physiol. (London) 107: 418-29 (1948 b)

26 HARRIS, G.W., JACOBSOHN, D.: Functional grafts of the anterior pituitary gland.
Proc. Roy. Soc. B. 139: 263-76 (1952)

27 HARRIS, G.W.: On neural control of the pituitary gland. Arnold, London (1955)

28 HELLER, S.: Nachweis und biologische Charakterisierung von menschlichen Gonadotropin-Releasing-Aktivitäten. Fortschritte der Geburtshilfe und Gynäkologie, Vol. 46: 146-214 (1972)

29 IGARASHI, M., McCANN, S.M.: A hypothalamic follicle stimulating hormone-releasing-factor.
Endocrinology 74: 446-52 (1964)

30 JOHNSON, D.C.: Hypophysial LH-release in androgenized female rats after administration of sheep brain extracts.
Endocrinology 72: 832-36 (1963)

31 JUTISZ, M., BÉRAULT, A., NOVELLA, M.A.: Sur le mécanisme d'action du facteur hypothalamique LRF in vitro.
C.R. Acad. Sci. Paris, t. 263: 664-67 (1966)

32 JUTISZ, M. and PALOMA DE LA LLOSA, M.: Studies on the release of follicle-stimulating hormone in vitro from rat pituitary glands stimulated by hypothalamic follicle-stimulating hormone-releasing factor.
Endocrinology 81: 1193-1202 (1967)

33 KAMBERI, J.A. and McCANN, S.M.: Effect of biogenic amines, FSH-releasing factor (FRF) and other substances on the release of FSH by pituitaries incubated in vitro.
Endocrinology 85: 815-824 (1969)

33a KAMBERI, J.A., SCHNEIDER, H.P.G. and McCANN, S.M.: Action of dopamine to induce release of FSH-releasing factor (FRF) from hypothalamic tissue in vitro.
Endocrinology 86: 278-84 (1969)

34 KUROSHIMA, A., ISHIDA, Y., BOWERS, C.Y. and SCHALLY, A.V.: Stumulation of release of follicle-stimulating-hormone by hypothalamic extracts in vitro and in vivo.
Endocrinology 76: 614-19 (1965)

35 LABHSEBWAR, A.P.: Effects of prostaglandin F_2 on pituitary luteinizing hormone content of pregnant rats: A possible explanation for the luteolytic effect.
Journal of Reproduction and Fertility, Oxford 23 : 155-159 (1970)

36 MATSUO, H., BABA, Y., NAIR, A., ARIMURA, A., SCHALLY, A.V.: Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 43: 1334-39 (1971)

37 McCANN, S.M., TALEISNIK, S. and FRIEDMAN, H.M.: LH-releasing activity in hypothalamic extracts.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104: 432-34 (1960)

38 McCANN, S.M.: A hypothalamic luteinizing-hormone-releasing-factor.
Amer. J. Physiol. 202: 395-404 (1962)

39 MITTLER, J.C., ARIMURA, A. and SCHALLY, A.V.: Release and synthesis of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in pituitary cultures in response to hypothalamic preparations.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 133: 1321-25 (1970)

40 NIKITOVITCH-WINER, M.B.: Induction of ovulation in rats by direct intrapituitary infusion of median eminence extracts.
Endocrinology 70: 350-58 (1962)

41 OJEDA, S.R., HARMS, P.G. and McCANN, S.M.: Effect of inhibitors of prostaglandin synthesis on gonadotropin release in the rat.
Endocrinology 97 Nr.4: 843-853 (1975)

42 PHARRISS, B.B. and WYNGARDEN, L.J.: The effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on the progestagen content of ovaries from pseudopregnant rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130: 92-94 (1969)

43 PLACSEK, B.E., MEITES, J.: Effects of castration and gonadal hormones on hypothalamic content of luteinizing hormone releasing factor (LRF).
Endocrinology 79: 432-439 (1966)

44 RAMIREZ, V.D., NALLAR, R., McCANN, S.M.: Purification of luteinizing hormone releasing-factor from beef hypothalamus.
Proc. Soc. Exp. Biol. 115: 1072 (1964)

45 RAMIREZ, V.D. and SAWYER, C.H.: Advancement of puberty in the female rat by estrogen.
Endocrinology 76: 1158-1168 (1965)

46 RATNER, A.: Stimulation of luteinizing hormone release in vitro by dibutyryl-cyclic-AMP and theophylline.
Life Sciences 9: 1221-1226 (1970)

47 REDDING, T.W., SCHALLY, A.V., ARIMURA, A., MATSUO, H.: Stimulation of release and Synthesis of luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in tissue cultures of rat pituitaries in response to natural and synthetic LH and FSH releasing hormone.
Endocrinology 90: 764-770 (1972)

48 SAFFRAN, M., SCHALLY, A.V.: Release of corticotropin by anterior pituitary tissue in vitro.
Cand. Biochem. 33: 408-15 (1955)

49 SAMLI, M.H. and GESCHWIND, I.: Some effects of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor on the biosynthesis and release of luteinizing hormone.
Endocrinology 81: 835-48 (1967)

49a SAMLI, M.H. and GESCHWIND, J.J.: Some effects of energency-transfer inhibitors and of Ca^{++}-free or K^{+}-enhanced media on the release of luteinizing hormone (LH) from the rat pituitary glands in vitro.
Endocrinology 82: 225-31 (1967)

50 SANDOW, J., SCHALLY, A.V., SCHRÖDER, H.G., REDDING, T.W., HEPTNER, W. and VOGEL, H.G.: Pharmacological characteristics of a synthetic releasing hormone: LH-/FSH-RH (Hoe 471)part I: Release of luteinizing hormone.
Arzneimittelforschung 22, Nr. 15: 1718-21 (1972)

51 SCHÄFER, I.: Untersuchungen über die Wirkung von LHRH 10-6309 auf die Freisetzung von LH an Rattenhypophysenkulturen und Beeinflussung durch Acetylsalicylsäure und Prostaglandin $F_{2\alpha}$.
Inaugural-Dissertation 1979 Universität Tübingen

52 SCHALLY, A.V., BOWERS, C.Y.: In vitro and in vivo stimulation of the release of LH.
Endocrinology 75: 312-20 (1964)

53 SCHALLY, A.V., BOWERS, C.Y.: Purification of luteinizing hormone releasing factor from bovine hypothalamus.
Endocrinology 75: 608-14 (1965)

53a SCHALLY, A.V., BOWERS, C.Y., KUROSHIMA, A., ISHIDA, T., REDDING, T.W., KASTIN, A.J.: Proceeding of the XXIII rd International Congress of Physiological Sciences, Tokyo.
Excerpt. Med. International Congress Sciences No. 87, 275 (1965)

54 SCHALLY, A.V., SAITO, T., ARIMURA, A.: Purification of follicle-stimulating-hormone-releasing-factor from bovine hypothalamus.
Endocrinology 79: 1087-94 (1966)

55 SCHALLY, A.V., BOWERS, C.Y., WHITE, W.F., COHEN, A.I.: Purification and in vivo and in vitro studies with porcine luteinizing hormone-releasing-factor LRF.
Endocrinology 81: 77-87 (1967)

55a SCHALLY, A.V., MÜLLER, E.E., ARIMURA, A., BOWERS, C.Y., SAITO, T., REDDING, T.W., SAWONO, S., PIZZOLATO, P.: Releasing factors in human hypothalamic and neurohypophysial extracts.
J. Clin. Endocr. 27: 755-762 (1967)

56 SCHALLY, A.V. and MITTLER, J.C.: Failure of putrescine and other polyamines to promote FSH release in vitro.
Endocrinology 86: 903-908 (1969)

57 SCHALLY, A.V. and KASTIN, A.J.: The role of sex steroids, hypothalamic LH-releasing hormone and FSH-releasing hormone in the regulation of gonadotropin secretion from the anterior pituitary gland.
In Advances in Steroid Biochemistry and Pharmacology, Briggs, M.H., Ed. Acad. Press, London p. 42 (1970)

58 SCHALLY, A.V., ARIMURA, A., KASTIN, A.S.: Gonadotropin releasing hormone: One polypeptide regulates secretion of luteinizing- and follicle-stimulating hormones.
Science 173: 1036-1038 (1971)

58a SCHALLY, A.V., BABA, Y. and REDDING, T.W.: Studies on the enzymatic and chemical inactivation of hypothalamic follicle-stimulating hormone-releasing hormone.
Neuroendocrinology 8: 70-80 (1971)

58b SCHALLY, A.V., KASTIN, A.J., ARIMURA, A.: Hypothalamic-follicle-stimulating-hormone (FSH) and luteinizing-hormone (LH-regulating-hormone): Structure, physiology and clinical studies.
Fertility and Sterility 22: 703 (1971)

58c SCHALLY, A.V., BABA, Y., ARIMURA, A., REDDING, T.W.: Evidence for peptide nature of LH-and FSH-releasing hormones.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 42: 50-56 (1971)

58d SCHALLY, A.V., ARIMURA, A., BABA, Y., NAIR, R.M.G., MATSUO, H., REDDING, T.W., DEBELJUK, L.: Isolation and properties of the FSH- and LH-releasing hormone.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 43: 393-99 (1971)

59 STEINBERGER, A., CHOWDHURY, M., STEINBERGER, E.: Effect of repeated replenishment of hypothalamic extract on LH and FSH secretion in monolayer cultures of rat anterior pituitary cells.
Endocrinology 92/1: 12-17 (1973)

60 TIXIER-VIDAL, A., KERDELHUE, B., BÉRAULT, A. et JUTISZ, M.: Cinétique de la sécrétion de l'hormone lutéinisante (LH) par l'antéhypophyse de rat en culture organotypique: influence d'une prêparation purifiée du facteur hypothalamique de libération de LH (LRF).
C.R. Acad. Sci. Paris t 271: 523-526 (1970)

61 TÖRÖK, B.: Lebendbeobachtung des Hypophysenkreislaufes an Hunden.
Acta morph. Acad. Sci hung. 4: 83-89 (1954)

62 VANE, John R.: Inhibition of prostaglandin biosynthesis as the mechanism of action of aspirinlike drugs.
Advances in the Biosciences 9; International Conference on Prostaglandins 395-411 (1972)

63 WAKABAYASHI, K., KAMBERI, J.A. and McCANN, S.M.: In vitro response of the rat pituitary to gonadotropin-releasing factors and to ions.
Endocrinology 85: 1046-1056 (1968)

64 WAKABAYASHI, K., RODRIGUES, J.A., TAMAOHI, B.-J. and McCANN, S.M.: In vitro effect of hypothalamic extract and other stimulating agents on glucose oxidation and luteinizing hormone (LH) release from rat anterior pituitary glands.
Endocrinology 90: 690-99 (1972)

65 WATANABE, S., DHARIWAL, A.P.S. and McCANN, S.M.: Effect of inhibitors of protein. Synthesis on the FSH-releasing action of hypothalamic extracts in vitro.
Endocrinology 82: 674-684 (1967)

66 WESTMAN, A. und JACOBSOHN, D.: Endokrinologische Untersuchungen an Ratten mit durchtrenntem Hypophysenstiel. 3. Mitteilung: Über die luteinisierende Wirkung des Follikelhormons.
Acta Obstetr. Scand. (Schwd.) 18, 115 (1938)

67 WHITE, W.F.: Hypophysiotrophic hormones of the hypothalamus: Assay and Chemistry.
Meites, J., Ed. Williams & Wilkins, Baltimore p.248 (1970)

68 ZOR, K., LAMPRECHT, S.A., KONEHO, T., SCHNEIDER, H.P.G., McCANN, S.M., FIELD, J.B., TSAFRINI, A. and LINDNER, H.R.: Functional relations between cyclic AMP, prostaglandines, and luteinizing hormone in rat pituitary and ovary.
Advances in Nucleotide Research 1: 503-520 (1972)

DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit wurde in der Frauenklinik der Universität Tübingen durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. med. S. Heller	für die Bereitstellung des Arbeitsthemas, des Arbeitsplatzes und für die Anleitung und Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.
Herrn Privatdozent Dr.med.H.Hole	für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seinem Chromosomenlabor zur sterilen Züchtung der Hypophysen.
Frau Eva Wenzel	für die Unterstützung bei der Kultivierung der Hypophysen.
Herrn Walter Eberle	für die Unterstützung bei der Auswertung mit Radioimmunoassay.

L E B E N S L A U F

Am 18. Oktober 1948 wurde ich, Elisabeth Doris Seyerle, als Tochter des Kaufmanns Paul Seyerle und seiner Ehefrau Mina Seyerle, geborene Ebner, in Reichenbach/Fils geboren. Nach vierjährigem Besuch der Grundschule in Plochingen besuchte ich das Theodor-Heuss-Gymnasium in Esslingen, wo ich am 21.6. 1968 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1968/69 begann ich an der Universität in Tübingen Biologie zu studieren. Im Oktober 1970, nach bestandener Diplom-Vorprüfung wechselte ich zum Fach Medizin über. Im März 1973 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung und am 9. Juli 1976 legte ich das Medizinische Staatsexamen mit Erfolg ab.

Meine Medizinalassistentenzeit leistete ich an den Städtischen Krankenanstalten und im Vincentius-Krankenhaus in Karlsruhe ab. Am 1. Dezember 1977 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Seit dem 1. Januar 1978 bin ich als Assistenzärztin in der II. Medizinischen Klinik der Städtischen Krankenanstalten in Karlsruhe tätig.